Enke Copythek

ISBN 3-432-92401-2

Ferdinand Enke Verlag Stuttgart

Bedeutung endogener Opiate im Rahmen des Fortpflanzungsgeschehens

von

Hannelore Ehrenreich

1981

Dr. Hannelore Ehrenreich
Gynäkologische und Ambulatorische
Tierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität
München

CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek

Ehrenreich, Hannelore:
Bedeutung endogener Opiate im Rahmen des
Fortpflanzungsgeschehens / von Hannelore
Ehrenreich. - Stuttgart : Enke, 1981.
(Enke-Copythek)
ISBN 3-432-92401-2

Alle Rechte, insbesondere das Recht der Vervielfältigung und Verbreitung sowie der Übersetzung, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (durch Photokopie, Mikrofilm oder ein anderes Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

© 1982 Ferdinand Enke Verlag, POB 1304, 7000 Stuttgart
Printed in Germany

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München
Lehrstuhl: Professor Dr. M. Rüsse

BEDEUTUNG ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DES FORTPFLANZUNGSGESCHEHENS

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Hannelore Ehrenreich
aus Augsburg

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. M. Rüsse

Korreferent: Prof. Dr. D. Hegner

Tag der Promotion: 24. Juli 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545801_0003

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. EINLEITUNG .....

1.1. Historie 7

1.2. Endogene Opiate 12

1.3. Vorbemerkungen zu dieser Arbeit 36

2. BEEINFLUSSUNG HYPOPHYSÄRER HORMONFREISETZUNG DURCH ENDOGENE OPIATE - PILOTVERSUCHE -

2.1. Gonadotropinsekretion 38

2.1.1. Versuche an männlichen Ratten 39

2.1.2. Versuche am Menschen 47

2.2. Prolactinsekretion 50

2.2.1. Versuche an Ratten 51

2.2.2. Versuche an der Ziege 68

2.2.3. Versuche an Primaten 69

3. WIRKUNGSORT UND WIRKUNGSMECHANISMUS ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER GONADOTROPINKONTROLLE

3.1. Prüfung einer direkten Einwirkung auf die Hypophyse 72

3.2. Allgemeine Bemerkungen zur Gonadotropinsteuerung 76

3.3. Suche nach einem hypothalamischen und/oder übergeordneten Angriffspunkt endogener Opiate 84

4. WIRKUNGSORT UND WIRKUNGSMECHANISMUS ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER PROLACTINKONTROLLE

4.1. Allgemeine Bemerkungen zur Steuerung der Prolactinsekretion 90

4.2. Prüfung eines hypophysären Angriffspunktes endogener Opiate 96

4.3. Effekte endogener Opiate auf den Catecholamin-Turnover 104

4.4. Östrogene, Prolactin und endogene Opiate 110

4.5. Substanz P - Opioid-Interaktionen 115

4.6. Versuche zur Aufklärung des Opioidangriffspunktes durch Testung verschiedener, die Wirkung von Neurotransmittern beeinflussender Drogen 117

4.6.1. Dopaminerge Drogen 117

4.6.2. Serotoninerge Drogen 126

4.6.3. Pluripotente Drogen 131

4.6.4. Résumée 135

5. SUCHE NACH DER PHYSIOLOGISCHEN BEDEUTUNG ENDOGENER OPIATE BEI DER REGULATION DER PROLACTIN-FREISETZUNG 139

5.1. Saugen und Melken 141

5.2. Pineal gesteuerter Prolactinsekretionsrhythmus - Arginin-Vasotocin - 145

5.3. REM-assoziierter Prolactinanstieg beim Menschen 147

5.4. Stressinduzierte Prolactinsekretion 150

5.5. Stress, ACTH, ß-Endorphin und Prolactin 157

6. BEDEUTUNG ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSEN-GONADENACHSE MÄNNLICHER TIERE

6.1. Vergleichende Untersuchungen an intakten und kastrierten Tieren 173

6.2. Opioid-Androgen-Interaktionen 182

6.3. Androgene, Prolactin und endogene Opiate 190

6.4. Endogene Opiate in männlichen Geschlechtsorganen 193

6.5. Endogene Opiate und männliches Sexualverhalten 195

7. BEDEUTUNG ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSEN-GONADENACHSE WEIBLICHER TIERE - VERSUCHE NACH OVARIEKTOMIE -

7.1. Gonadotropin- und Prolactinblutspiegel nach Ovariektomie 198

7.1.1. Beeinflussung durch Östrogensubstitution 198

7.1.2. Einfluß von Östrogen- und Progesteron-substitution 202

7.2. Endogene Opiate bei ovariektomierten Tieren .. 204

8. PREPUBERTALE ZEIT UND PUBERTÄT

8.1. Heutige Vorstellungen von den Ereignissen, die zur sexuellen Reife führen 216

8.2. Opioide, prepubertale Gonadotropinsekretion und Steroid-Feedbackaktion 221

8.3. Opioide und prepubertale Prolactinfreisetzung. 232

8.4. Pubertät, ACTH und hypophysäres ß-Endorphin .. 234

9. ENDOGENE OPIATE UND ALTERUNGSBEDINGTE VERÄNDERUNGEN IM BEREICH DER HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSEN-TESTESACHSE 237

10. BETEILIGUNG ENDOGENER OPIATE AM ZYKLUSGESCHEHEN

10.1. Basale und zyklische Gonadotropinsekretion ... 248

10.1.1. Östruszyklus der Ratte 248

10.1.2. Menstruationszyklus 256

10.2. Preovulatorischer Prolactinanstieg 262

10.3. Met-Enkephalin-Konzentrationen in Hypothalamus und Hypophyse während des Östruszyklus der Ratte 263

10.4. Mögliche Rolle endogener Opiate im Zyklusgeschehen 268

10.5. Toleranztheorie 273

11. ENDOGENE OPIATE IN DER KONTROLLE NEUROHYPOPHYSÄRER HORMONSEKRETION

11.1. Leu-enkephalinimmunoreaktive Nervenbahnen in der Neurohypophyse 275

11.2. Vasopressin und endogene Opiate 278

11.3. Beeinflussung der Oxytozinsekretion durch endogene Opiate 282

11.3.1. Pilotversuche 282

11.3.2. Wirkungsort und Wirkungsmechanismus 285

12. ENDOGENE OPIATE IN GRAVIDITÄT UND GEBURT ... 293

12.1. Beeinflussung der Schmerzschwelle durch endogene Opiate 295

12.2. Analgetische Wirksamkeit von Opioiden im Rahmen der Geburt 299

12.3. ß-Endorphin- und ACTH-Plasmakonzentrationen intra et post partum 301

12.4. Plazentare Opioide 306

12.5. Opioide in Amnionflüssigkeit, maternalem und fetalem Blut 308

12.6. Mögliche Bedeutung endogener Opiate im Rahmen der Geburt 310

13. ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY 319

14. LITERATURVERZEICHNIS 323

LEBENSLAUF

1. EINLEITUNG

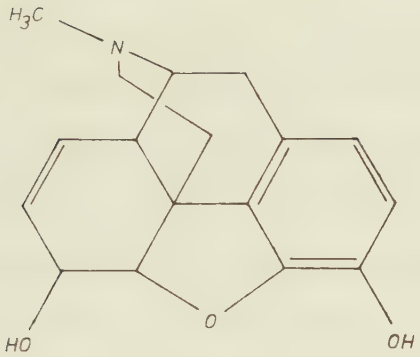
1.1. HISTORIE

Möglicherweise schon den alten Sumerern, rund 4000 Jahre vor Christus, bekannt, die dem Schlafmohn (Papaver somniferum) den Namen "hul-gil" (Freuden-Pflanze) gaben, findet der milchige Saft dieser Pflanze in den Schriften des Aristoteles-Schülers Theophrastos (371-287 v.Chr.) — Historia plantarum — Erwähnung, und auch das griechische Wort für Saft war es, das für die heutige Bezeichnung Pate stand: ὀπός, "Opium".
Das Attribut "Laudanum" soll Paracelsus (1493-1541 n.Chr.) dafür gefunden haben, und aus Sydenham's Bemerkung (1680 n.Chr.) geht deutlich hervor, wie sehr die Opiumwirkung geschätzt wird: "... among the remedies which it has pleased Almighty God to give to man to relieve his sufferings, none is so universal and so efficacious as opium..."

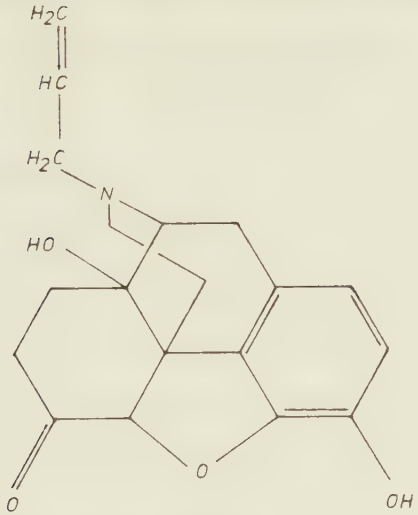
Im Jahre 1803 gelang es dem jungen, deutschen Apotheker Friedrich Wilhelm Adam Sertürner aus Paderborn, ein Opiumalkaloid zu isolieren, das er "Morphin", nach Morpheus, dem griechischen Gott der Träume, taufte (Abb. 1). Bald darauf wurden weitere Bestandteile entdeckt, Codein durch Robiquet, 1832, Papaverin durch Merck, 1848, so daß die Medizin künftig in der Lage war, bevorzugt die Reinsubstanzen anzuwenden.

War schon im 18. Jahrhundert das Rauchen von Opium im Orient populär geworden, verleitete der vormals freie Zugang zu diesen Substanzen auch in Europa bald zu Mißbrauch, zuerst durch "Trinken von Laudanum" und "Essen von Opium" — daher die Bezeichnung "Opiumhunger" — und nach Erfindung der Injektionsnadel zum Abusus auf diesem Wege.

Die Erkenntnis, daß Morphin nicht nur psychische, sondern daneben starke, physische Abhängigkeit auslöst, ließ zahllose Bemühungen aufkommen, Medikamente zu entwickeln, welche — die hervorragende, analgetische Wirkung des Opiumalkaloids nachvollziehend — keine Sucht induzieren sollten. Obwohl Hunderte opiatartiger Stoffe synthetisiert und auf ihre Effekte geprüft wurden, blieb dieses Ziel unerreicht. So gelangte man beispielsweise durch Anlagerung von Acetyl- an beide Morphinhydroxylgruppen (Abb. 1) zu Diacetylmorphin, genannt Heroin, dem heute am häufigsten mißbrauchten Opiat. Andererseits führten die Versuche zur Entdeckung von Opiatantagonisten, also Substanzen, die die Morphinwirkung aufzuheben vermögen, wobei sich Naloxon (Abb. 1) im Gegensatz zu vielen anderen, noch partiell über Opiateffekte verfügenden Stoffen, wie Butorphanol, Nalorphin oder Oxilorphan, als ausschließlich antagonistisch agierend, und damit als wertvolles Hilfsmittel beim Studium der Opiatsucht, und später für die Aufklärung der physiologischen Bedeutung endogener Opiate vorstellte.



Morphin



Naloxon

Abb. 1: STRUKTURFORMELN VON MORPHIN UND DEM OPIATANTAGONISTEN NALOXON

Neben der Existenz spezifischer Antagonisten, rückte die Tatsache, daß Opiate im Zentralnervensystem wie in verschiedenen Organen ganz charakteristische Aktionen entfalten und ihre analgetische Potenz darüberhinaus andere Sinnesfunktionen im Organismus weitgehend unberührt läßt, den Gedanken, es hier mit Wirkstoff-Rezeptor-Interaktionen zu tun zu haben, immer mehr in den Vordergrund neuropharmakologischer Forschung. Sehr stark für diese Anschauung sprach einerseits die Möglichkeit, opiatspezifische Wirkungen schon durch niedrige Agonistenkonzentrationen auslösen zu können, andererseits die Beobachtung, daß von stereoisomeren Paaren immer nur die (−)−Form analgetische Eigenschaften beweist.

So gelang es 1973 den Arbeitsgruppen um SNYDER (Baltimore), TERENIUS (Uppsala) und SIMON (New York) etwa gleichzeitig, unter Verwendung radioaktiv markierter Opiate, die Existenz entsprechender Bindungsstellen nachzuweisen. Damit war simultan die Frage aufgeworfen, welche physiologische Bedeutung diesen Rezeptoren zuzuerkennen sei, konnte man doch nicht annehmen, daß der Organismus Bindungsstellen für exogene Stoffe bereithielt.

Die intensive Suche nach körpereigenen Liganden ließ 1975 HUGHES und KOSTERLITZ aus Aberdeen in Schottland opiatartig wirkendes Material in Hirnextrakten von Schwein, Rind Maus, Ratte, Kaninchen und Meerschweinchen finden, dessen Analyse zu zwei sehr ähnlichen Substanzen führte, die sich

überraschenderweise als Pentapeptide vorstellten, und von ihren Entdeckern "Methionin-" und "Leucin-Enkephalin" getauft wurden.

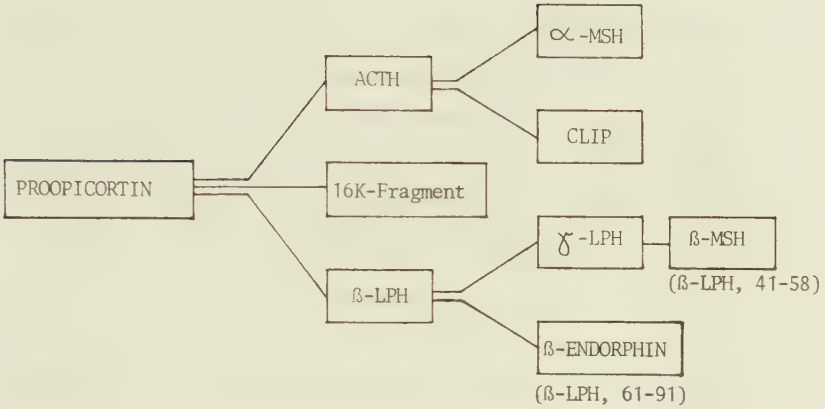
Andere Forschergruppen zeigten wenig später, daß daneben höher molekulare Peptide mit Opiatpotenzen im Organismus existieren, und zahllose Untersuchungen dehnten sich nicht nur auf weitere Spezies aus, unter anderem Mensch, Affe, Katze, Hund, Schaf, Ziege, Oppossum, Goldfisch und Regenwurm, sondern trachteten auch danach, Zusammensetzung, Lokalisation, Eigenschaften und Bedeutung dieser Stoffe im Körper aufzuklären.

1.2. ENDOGENE OPIATE

Während der Begriff "Opioide" exo- wie endogene Liganden der Opiatrezeptoren einschließt, werden die Bezeichnungen "Opiate" auf körperfremde, "endogene Opiate"auf körpereigene, "Opioidpeptide" auf endogene oder synthetische Peptide mit Opiatwirkung angewandt.

Von den bisher entdeckten, opiatähnlich agierenden Peptiden können derzeit nur ß-Endorphin, Methionin- und Leucin-Enkephalin eindeutige, physiologische Funktionen zuerkannt werden, obgleich weitere, mutmaßliche "Kandidaten" bereitstehen, deren Isolierung erst in jüngster Zeit gelang, wie z.B. Dynorphin (1-13) (GOLDSTEIN et al., 1979; BROWNSTEIN, 1980; WAHLSTRÖM et al., 1980; HUGES, 1981) , α-Neoendorphin (KANGAWA et al., 1979; STERN et al., 1979; BROWNSTEIN, 1980), oder humorales (H-) Endorphin (GRANAT et al., 1980; SARNE et al., 1981).

Durch enzymatische Spaltung von ß-Lipotropin (ß-LPH), einem schon mehr als 15 Jahre bekannten, aus 91 Aminosäuren zusammengesetzten, adenohypophysären Peptid, das selbst einer Opiatwirkung entbehrt, entsteht das 31 Aminosäuren umfassende ß-Endorphin (ß-LPH 61-91) (Abb. 2a). ß-Lipotropin seinerseits leitet sich neben ACTH — das wiederum die Vorstufe für α-MSH und CLIP bildet — von dem "31 K-Peptid" Proopicortin ab:



Die Herkunft von einem gemeinsamen Prekursormolekül liefert die Erklärung für das ähnliche Verteilungsmuster dieser Peptidklassen in den zur Proopicortinsynthese befähigten Geweben, wie Hypophyse, Hypothalamus und diverse, andere Hirnregionen.

Dabei entscheidet das Enzymprofil der jeweiligen Zellpopulationen über Art und Grad der Aufspaltung, also das Konzentrationsverhältnis der einzelnen Proopicortinfraktionen, und spiegelt gleichzeitig gewebsunterschiedliche Kontrollmechanismen für die Freisetzung dieser Hormone wider. So findet man bei der Ratte in der Adenohypophyse vorwiegend das jeweils größere Peptid (ACTH/ß-LPH), in Pars intermedia hypophysis und Gehirn hingegen vor allem α-MSH/ß-Endorphin (GOLDSTEIN, 1976; QUEEN et al., 1976; WATSON et al., 1977; GIAGNONI et al., 1977; CRINE et al.,

1977; 1979; SCHULZ, 1978; TAUBE, 1978; AKIL et al., 1978; COX et al., 1978; SMYTH et al., 1979; 1980; KUSCHINSKY, 1979; ELDE, 1979; KRIEGER, 1979; LAUBER et al., 1979; RAYMOND et al., 1979; ZAKARIAN et al., 1979; MAINS et al., 1979; BROWNSTEIN, 1980; DEFTOS et al., 1980; SABOL, 1980; SNYDER, 1980; VERMES et al., 1980; HERZ et al., 1980).

Weitere, Opiateigenschaften aufweisende ß-LPH-Fragmente scheinen teils artifiziellen Ursprungs zu sein, und auch Methionin-Enkephalin, das, in ß-Lipotropin vorhanden, den N-Terminus von ß-Endorphin (ß-LPH 61-65) darstellt, dürfte physiologischerweise aus anderen, hochmolekularen Vorstufen gebildet werden, die noch nicht sicher identifiziert sind (Abb. 2a) (WATSON et al., 1977; ROSSIER et al., 1977c; TAUBE, 1978; SCHULZ, 1978; GRÄF, 1978; MAINS et al., 1979; LOWNEY et al., 1979; LAUBER et al., 1979; RAYMOND et al., 1979; STERN et al., 1979; GUILLEMIN, 1979; HUANG et al., 1979; BROWNSTEIN, 1980; KIMURA et al., 1980; SNYDER, 1980).
Desgleichen bleibt die Frage nach dem Prekursor von Leucin-Enkephalin, dessen Sequenz u.a. in dem aus Schweinehypophysen isolierten, offenbar sehr potenten Dynorphin (1-13), wie in dem von Schweinehypothalami gewonnenen α-Neoendorphin enthalten ist, offen (Abb. 2b) (TAUBE, 1978; STERN et al., 1979; GOLDSTEIN et al., 1979; KANGAWA et al., 1979; BROWNSTEIN, 1980; KIMURA et al., 1980; WAHLSTRÖM et al., 1980).

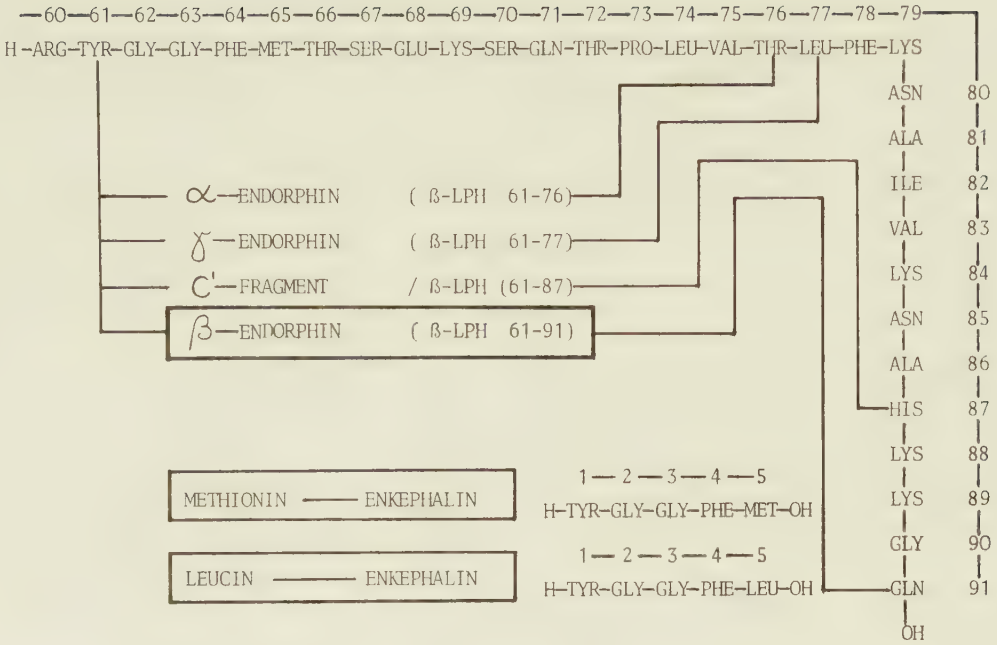


Abb. 2a: Aminosäuresequenz 60-91 des Hypophysenhormons ß-Lipotropin (91 Aminosäuren):

Durch Aufspaltung der ARG^{60}-TYR^{61}-Bindung entsteht das Peptid ß-Endorphin. Weitere, opiatähnlich wirkende Fraktionen stellen α-Endorphin, γ-Endorphin, C'-Fragment und Methionin-Enkephalin (61-65) dar, von dem sich Leucin-Enkephalin nur durch die Aminosäure in Position 5 unterscheidet (daher die Benennung Leu^5- bzw. Met^5-Enkephalin)

(nach TESCHEMACHER, 1978)

Neue Rätsel gibt beispielsweise auch ein kürzlich in Hirn und Rückenmark von Rind und Ratte entdecktes Dipeptid (TYR-ARG) auf: Die durch Naloxon antagonisierbare, analgetische Wirksamkeit des sogenannten Kyotorphin, das selbst offenbar der Fähigkeit zur Opiatrezeptorbindung entbehrt, wird seinem in vitro beobachteten Met-Enkephalin-Releasing-Effekt zugeschrieben (TAKAGI et al., 1979a und b; 1980; UEDA et al., 1980).

Da für die meisten, endogenen Opiate neben der Charakterisierung der physiologischen Vorstufen und Klärung des Umformungsmodus in die jeweiligen, biologisch aktiven Substanzen, auch Kenntnisse über deren Freisetzungsmechanismus und Metabolisierungsweise im Organismus noch weitgehend ausstehen, lassen sich momentan nur wenig Aussagen über die Zugehörigkeit der verwirrend zahlreichen Peptide mit Opiatpotenzen zu den verschiedenen, opioidergen Systemen, wie deren physiologische Aufgaben im Körper machen.
Bei einer ganzen Reihe von "endogenen Opiaten" mag es sich außerdem um artifiziell, beim Darstellungsprozeß abgespaltene Bruchstücke größerer Moleküle handeln (ROSSIER et al., 1977c; TAUBE, 1978; RAYMOND et al., 1979; BEAUMONT et al., 1979; JULLIARD et al., 1980; SWANN et al., 1980; BROWNSTEIN, 1980).

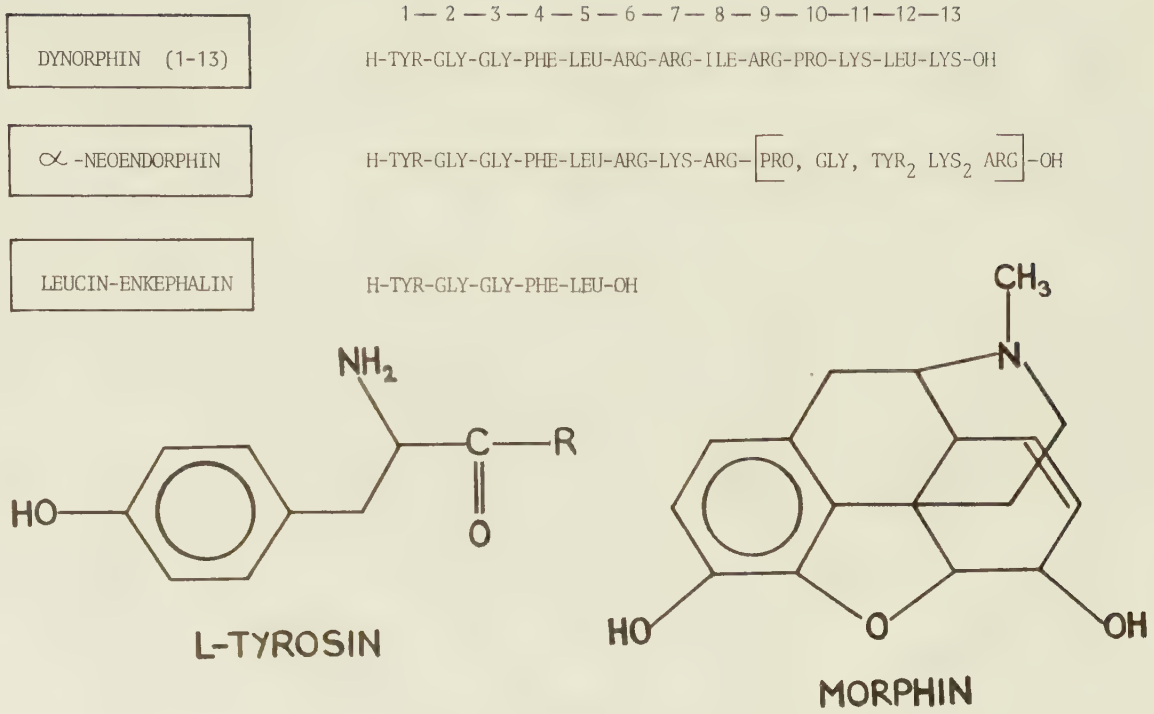


Abb. 2b: Aminosäuresequenz von Dynorphin (1-13) und ∝-Neoendorphin, die beide Leucin-Enkephalin (Aminosäuren 1-5) enthalten.
Unten: Vergleich der Strukturformeln von L-Tyrosin und Morphin
(nach BROWNSTEIN, 1980 und TAUBE, 1978).

Inwieweit demnach die jüngst in Milch und Milchprodukten, wie anderen Lebensmitteln gefundenen Opioidpeptide als — eventuell auch unter mikrobiellem Einfluß entstandene — "Zufallsprodukte" interpretiert werden dürfen, ist augenblicklich ebenso schwer zu beurteilen, wie die Frage einer etwaigen Entfaltung biologischer Aktivität durch diese Stoffe nach der Aufnahme entsprechender Nahrung (BRANTL et al., 1979; ZIOUDROU et al., 1979; WEI et al., 1980).

In Gehirn und Hypophyse zeigen endogene Opiate ein charakteristisches Verteilungsmuster, wobei die bevorzugten ß-Endorphin-Regionen von den Haupt-Enkephalingebieten abweichen (Vgl. Abb. 3, 4 und 5). Nicht zuletzt deshalb müssen separate Existenz, Steuerung und Funktion enkephalinerger und endorphinerger Systeme angenommen werden (HUGHES et al., 1977; ROSSIER et al., 1977b; 1979a; TERENIUS, 1978; YANG et al., 1978; SANTAGOSTINO et al., 1979; ELDE, 1979; BEAUMONT et al., 1979; KRIEGER, 1979; KRIEGER et al., 1979a; LEWIS et al., 1979; ZAKARIAN et al., 1979; LARSSON et al., 1979; SNYDER, 1980).
Darüberhinaus scheint das Vorhandensein dieser Peptide im Gehirn unabhängig von deren hypophysärem Gehalt zu sein (CHEUNG et al., 1976; QUEEN et al., 1976; FREDERICKSON, 1977; ROSSIER et al., 1977b; 1979a; KOBAYASHI et al., 1978; ELDE, 1979; GUILLEMIN, 1979).

Corpus callosum
Columna fornicis
Stria terminalis
N.rostralis thalami
N.medialis thalami
N.periventr.thalami
N.lateralis thalami
Commissura rostralis
Tractus opticus
Recessus infundibuli
Hypophyse
THALAMUS
III
HYPOTHALAMUS
Inselrinde
Capsula interna
Claustrum
Putamen
Nucl. caudatus
Globus pallidus
Corpus amygdaloideum
Area s.Nucl.anterior hypothal.
Nucl. paraventricularis
Nucl. supraopticus
Nn.tuberis laterales
Nucl. arcuatus

Abb. 3:

So findet man ß-Endorphin, das in der Neurohypophyse praktisch nicht nachweisbar ist, in höchster Konzentration in Hypophysenvorder- und -zwischenlappen, während seine Anteile im Gehirn weit darunter liegen, und vor allem auf Hypothalamus (Eminentia mediana, hypothalamische Nuclei), Area preoptica, Nucleus interstitialis striae terminalis, das periaquäduktale Grau, wie die Nuclei medialis thalami et amygdaloideus centralis beschränkt sind (Abb. 5) (CHEUNG et al., 1976; BLOOM et al., 1977; LLORENS-CORTES et al., 1977; ROSSIER et al., 1977b; 1979b; 1980b; AKIL et al., 1978; BAIZMAN et al., 1978; COX et al., 1978; BÉGEOT et al., 1978; BEAUMONT et al., 1979; GUILLEMIN, 1979; KRIEGER, 1979; LAW et al., 1979; ZAKARIAN et al., 1979; WOO et al., 1980; WILKES et al., 1980; TSENG et al., 1980; McKNIGHT et al., 1980).

Enkephaline demonstrieren größere Ausbreitung und lassen sich, ausser in der Hypophyse, wo sie vornehmlich in der Pars neurointermedia vertreten sind, insbesondere in zum extrapyramidalen System gehörigen Strukturen, wie Nucleus caudatus und Globus pallidus, daneben aber auch in hohen Gehalten in der Eminentia mediana, in hypothalamischen Nuclei und im Limbischen System nachweisen. Im Cerebellum dagegen fehlen sie fast völlig (FREDERICKSON, 1977; HONG et al., 1977; HUGHES et al., 1977; LLORENS-CORTES et al., 1977; ROSSIER et al., 1977b; 1979b; 1980b; FRENK et

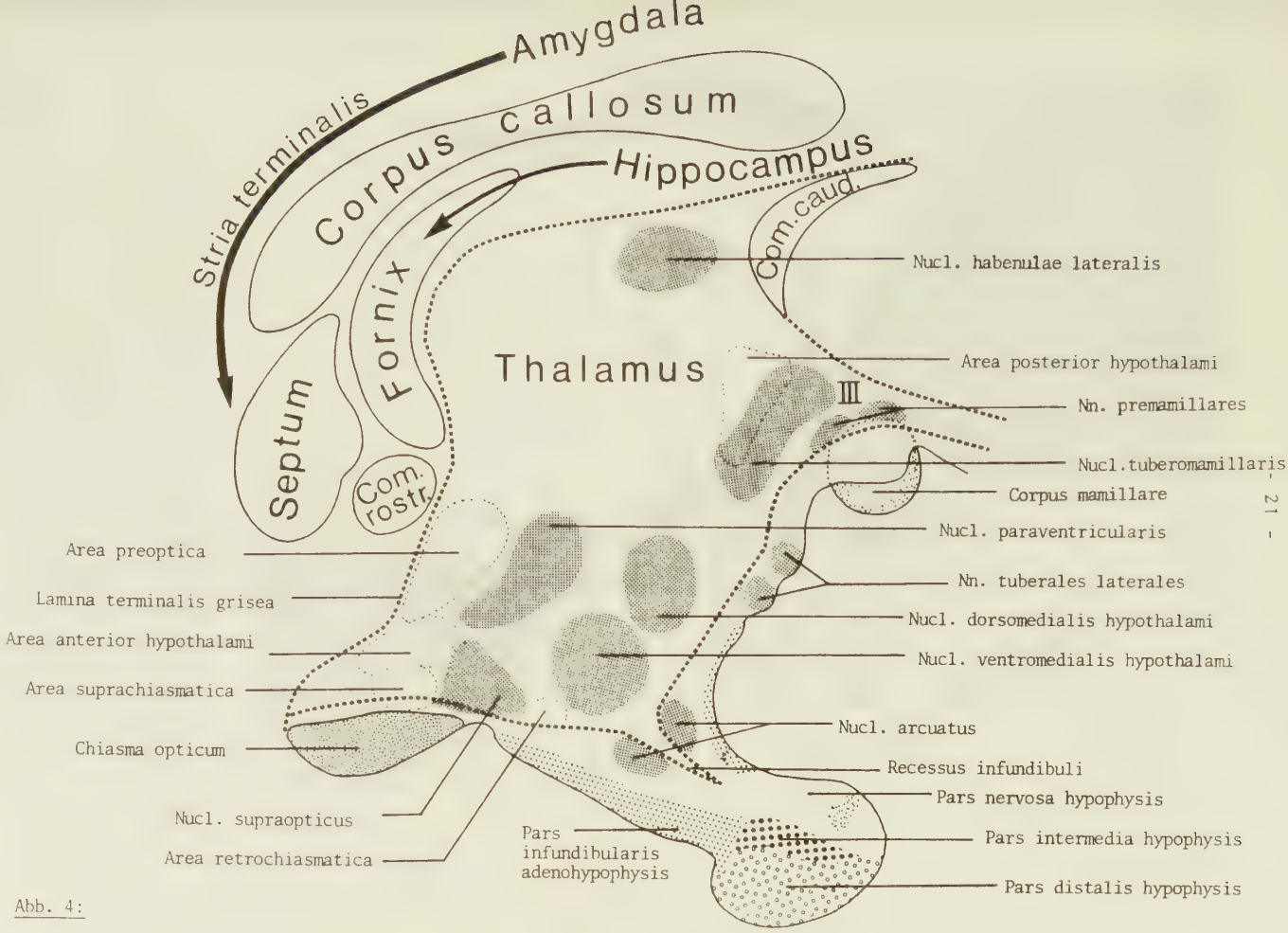

Amygdala
Stria terminalis
Corpus callosum
Hippocampus
Com.caud.
Fornix
Septum
Com. rostr.
Thalamus
III
Nucl. habenulae lateralis
Area posterior hypothalami
Nn. premamillares
Nucl.tuberomamillaris
Corpus mamillare
Nucl. paraventricularis
Nn. tuberales laterales
Nucl. dorsomedialis hypothalami
Nucl. ventromedialis hypothalami
Nucl. arcuatus
Recessus infundibuli
Pars nervosa hypophysis
Pars intermedia hypophysis
Pars distalis hypophysis
Area preoptica
Lamina terminalis grisea
Area anterior hypothalami
Area suprachiasmatica
Chiasma opticum
Nucl. supraopticus
Area retrochiasmatica
Pars infundibularis adenohypophysis

Abb. 4:

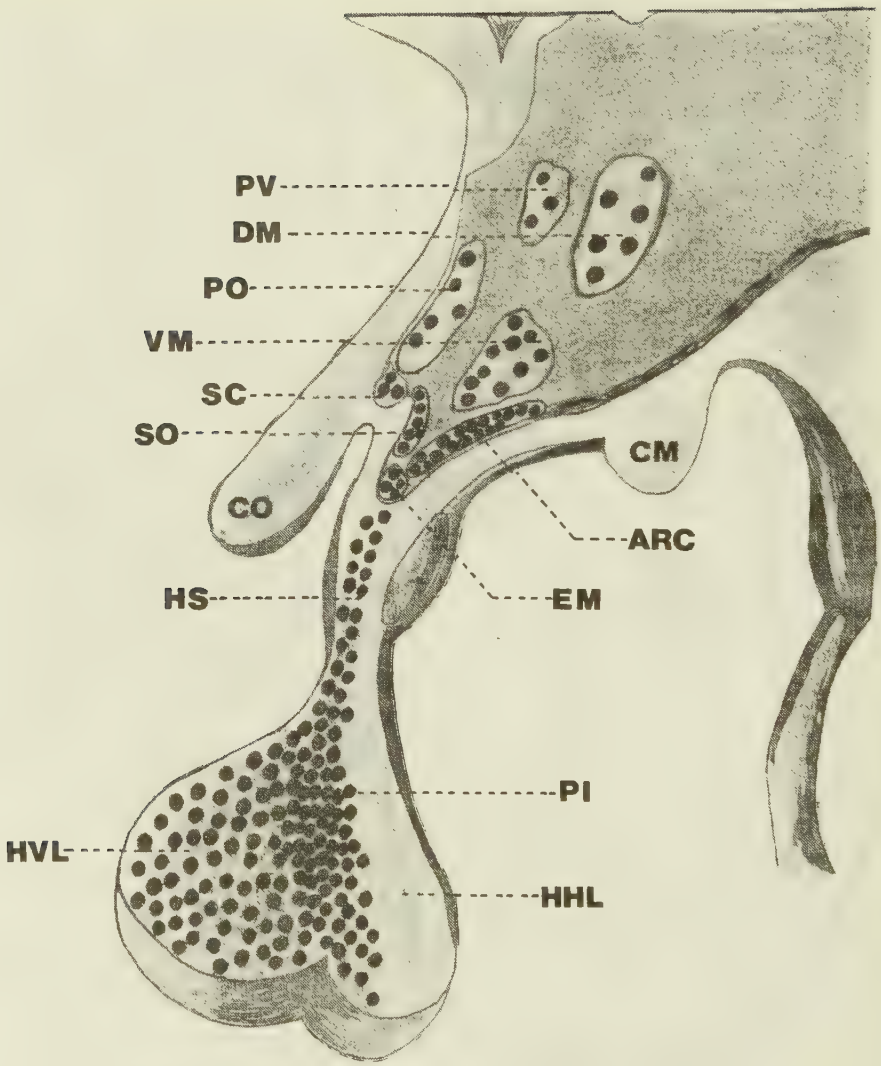


Abb. 5: Schematische Darstellung der relativen ß-Endorphinkonzentration (schwarze Punkte) in den verschiedenen Regionen des menschlichen Hypothalamus-Hypophysensystems (nach WILKES et al., 1980).

HVL, HHL: Hypophysenvorder-, -hinterlappen;
PI: Pars intermedia; HS: Hypophysenstiel; EM: Eminentia mediana; CO: Chiasma opticum; CM: Corpus mamillare;
ARC: Nucleus arcuatus; VM: Nucleus ventromedialis; DM: Nucleus dorsomedialis; SO: Nucleus supraopticus; SC: Area suprachiasmatica;
PO: Area preoptica; PV: Nucleus paraventricularis

al., 1978; TESCHEMACHER, 1978; YANG et al., 1978; BEAUMONT et al., 1979; ELDE, 1979; DiGIULIO et al., 1979; KRIEGER, 1979; TRAMU et al., 1979; PATEY et al., 1980; McKNIGHT et al., 1980; KUBEK et al., 1980).

Die Immunohistochemie förderte schließlich nach und nach eine Vielzahl opioiderger Faserzüge im Gehirn zutage. Während Met-Enkephalin positive Nervenbahnen u.a. zwischen Striatum und Globus pallidus, Amygdala centralis und Nucleus interstitialis striae terminalis entdeckt wurden, ziehen leu-enkephalinerge Neurone z.B. von den Nuclei supraopticus et paraventricularis zur Neurohypophyse, und spinnen einen Teil des reichen Netzwerks enkephalinimmunoreaktiver Terminalien in der Eminentia mediana. Im Gebiet des Nucleus arcuatus zeichnen sich etwa Perikaryen eines endorphinergen Prinzips ab, die lange Axone in Mittelhirn und limbische Strukturen aussenden (HONG et al., 1977; LARSSON et al., 1979; TRAMU et al., 1979; CLARKE et al., 1979; ELDE, 1979; HÖKFELT et al., 1979; BEAUMONT et al., 1979; ROSSIER et al., 1979b; 1980b; DUPONT et al., 1980; KUBEK et al., 1980; NICOLL et al., 1980; RISCH et al., 1980).

Nicht unbedingt den jeweiligen Opioidkonzentrationen entsprechend, enthüllt sich die weite Verteilung der Opiatrezeptoren im ZNS, die betont in Regionen des Hirnstamms,

vor allem im Bereich des Hohlraumsystems des Gehirns in Höhe des Mesencephalon, aber auch sehr zahlreich im Limbischen System anzutreffen sind. Hohen Gehalten in der Pars neurointermedia hypophysis steht ein geringerer, adenohypophysärer Anteil dieser Bindungsstellen gegenüber (LLORENS-CORTES et al., 1977; FOURNIE-ZALUSKI et al., 1978; SCHWARTZ et al., 1978; CHANG et al., 1979; LAW et al., 1978; 1979; SCHWARTZ, 1979; MALFROY et al., 1979; TRAMU et al., 1979; ROSSIER et al., 1980b; PERT et al., 1980).

Weit mehr Aufmerksamkeit als noch vor wenigen Jahren schenkt man heute in der Peripherie befindlichen Opiatbindungsstellen und den dort agierenden Opioidpeptiden. So lassen sich Opiatrezeptoren und enkephalinimmunoreaktive Strukturen im Dorsalhorn des Rückenmarks (DAVIES et al., 1976; BOUREAU et al., 1978; GAYTON et al., 1978; NEALE et al., 1978; SCHWARTZ, 1979; ELDE, 1979; BEAUMONT et al., 1979; HÖKFELT et al., 1979; BARKER et al., 1980; CHUNG et al., 1980; PERT et al., 1980; SHERMAN et al., 1980; KIRBY, 1981; HUGHES, 1981), in sympathischen Ganglien, in Cortex und chromaffinen Markzellen der Nebenniere finden, wo vor kurzem eine Reihe weiterer Opioidpeptide — besonders konzentriert bei Rind und Hund — , sowie mutmaßliche Prekursormoleküle entdeckt wurden (HUGHES et al., 1977; SCHULTZBERG et al., 1978a; TERENIUS, 1978; STERN et

al., 1979; LUNDBERG et al., 1979a; LEWIS et al., 1979; HÖKFELT et al., 1979; AMIR et al., 1980; BROWNSTEIN, 1980; KIMURA et al., 1980; YANG et al., 1980; PERT et al., 1980; WILSON et al., 1980; KUMAKURA et al., 1980; HUGHES, 1981).

Schließlich geben sich Opioide bzw. deren Bindungsstellen im Nervus Vagus (HUGHES et al., 1977 ; LUNDBERG et al., 1979b; HUGHES, 1981) ebenso zu erkennen, wie in autonomen Ganglien und sekretorischen Mukosazellen des Magen-Darm-Trakts (NORTH et al., 1976; MITZNEGG et al., 1977; HUGHES et al., 1977; KONTUREK et al., 1978; SCHULTZBERG et al., 1978b; ZETLER, 1979; WILLIAMS et al., 1979; SHAW, 1979; BLOOM et al., 1979; BODYCOTE et al., 1979; HÖKFELT et al., 1979; LARSSON et al., 1979; MARGULES, 1979; McCLOY et al., 1979; OKA et al., 1979; GILLAN et al., 1979; 1980; FURUKAWA et al., 1980; WONG et al., 1980; McCALLUM et al., 1980; NIJKAMP et al., 1980; OKA, 1980; PASCAUD et al., 1980; UDDMANN et al., 1980; WEISBRODT et al., 1980; HUGHES, 1981), in Leber, Gallenblase, exokrinem und endokrinem Pankreas und Fettgewebe (IPP et al., 1978; KONTUREK et al., 1978; BRUNI et al., 1979; AMIR et al., 1980; HUGHES, 1981), in Kreislaufapparat und Niere (KNOLL, 1976;HUGHES et al., 1977; HANKO et al., 1978; HOLADAY et al., 1978a; KONTUREK et al., 1978; WEI et al., 1980; WHARTON et al., 1980; FADEN et al., 1980; SCHAZ et al., 1980; HUGHES, 1981), in männlichen Geschlechtsorganen und Plazentaextrakten (BERTI et al., 1978; BRITTON et al., 1978; LEMAIRE et al., 1978a; NAKAI et al., 1978; SHARP et al., 1980; EDWARDS, 1980; HOUCK et al., 1980;

JULLIARD et al., 1980; WÜSTER et al., 1980; HUGHES, 1981).

Einen interessanten Gesichtspunkt stellt, angesichts der Existenz ganz verschiedener Vertreter endogener Opiate und offensichtlich separater, opioiderger Prinzipien, die immer stärker betonte Hypothese dar, wonach der Organismus über unterschiedliche Klassen von Opiatrezeptoren verfügt, die jeweils gewisse Liganden mit Vorliebe akzeptieren. Daneben wird eine vom Ionenmilieu abhängige Affinitätsmodulierbarkeit in vitro als Substrat einer möglichen Konformationsänderung am Rezeptor diskutiert (KNOLL, 1976; LORD et al., 1976;1977; TERENIUS, 1977; SCHWARTZ et al., 1978; SIMANTOV et al., 1978; SHAW et al., 1978; LEMAIRE et al., 1978a und b; SCHULZ, 1978; TAUBE, 1978; BRITTON et al., 1978; FRENK et al., 1978; SHAW, 1979; FERRARA et al., 1979; GILLAN et al., 1979; HAHN et al., 1979; CHANG et al., 1979; LAW et al., 1978; 1979; RAMABADRAN et al., 1979; SANTAGOSTINO et al., 1979; KUSCHINSKY, 1979; WOOD et al., 1980; McCALLUM et al., 1980; OKA, 1980; PASCAUD et al., 1980; LAASBERG et al., 1980; PERT et al., 1980; GOODMAN et al., 1980; GRANDISON et al., 1980; HUGHES, 1981).
Nachdem beispielsweise im Vas deferens der Ratte bislang hauptsächlich μ- und δ-Rezeptoren, also Morphin (μ) bzw. [D-Ala^2, D-Leu^5]-Enkephalin (δ) bevorzugende Bindungsstellen, lokalisiert worden waren, gelang es HERZ

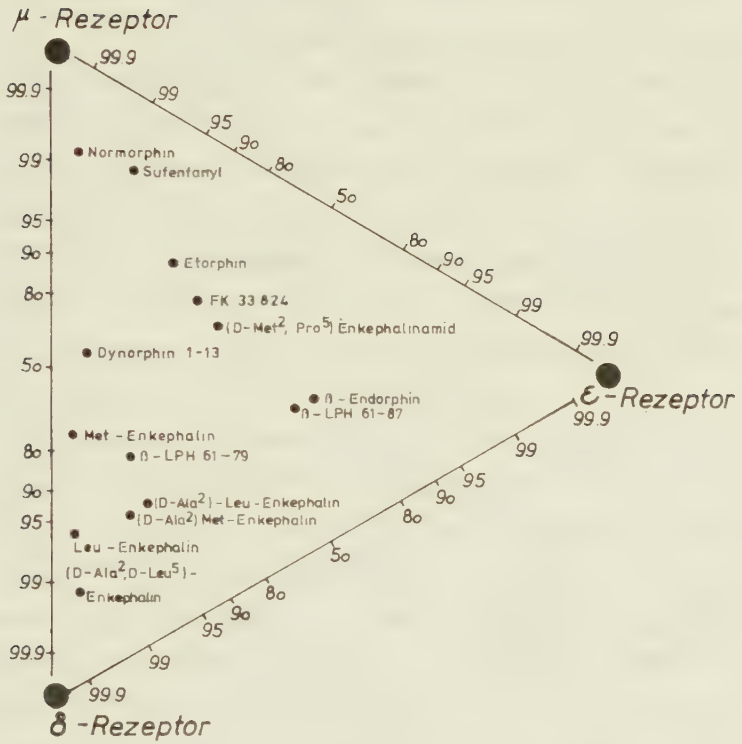


Abb. 6: Verhalten von Opioidagonisten gegenüber μ-, δ- und ε-Rezeptoren im Vas deferens von Maus und Ratte:

Die Position im Dreieck ergibt sich aus den relativen Potenzen der einzelnen Komponenten an den jeweiligen Rezeptorklassen. Die Benennung basiert auf den ermittelten, spezifischen Agonisten für diese Bindungsstellen und erlaubt eine Klassifizierung von Opioiden entsprechend ihrer Affinität zu den jeweiligen Rezeptortypen (μ: Morphin; δ: [D-Ala², D-Leu⁵] -Enkephalin; ε: ß-Endorphin)

(nach WÜSTER et al., 1980)

und Mitarbeitern (WÜSTER et al., 1980), dort einen bisher unbekannten Rezeptortyp ausfindig zu machen, der relativ hohe Selektivität für ß-Endorphin beweist, und somit als ε-Rezeptor betitelt wurde (Abb. 6).
An dieser Stelle sei vermerkt, daß u.a. Vas deferens von Maus und Ratte oder Meerschweinchenileum seit Jahren als Bioassay zur Prüfung von Opioiden bzw. deren Antagonisten verwendet werden. Dabei wird einerseits die Fähigkeit zu testender Agonisten, elektrisch induzierte Kontraktionen derartiger Präparate zu hemmen — bzw. die Potenz von Antagonisten, die Opiataktion zu egalisieren — , andererseits die Effektivität von Opioiden, z.B. Naloxon aus seiner spezifischen Bindung an Opiatrezeptoren kompetitiv zu verdrängen, mit entsprechenden Wirkungen bekannter Substanzen verglichen. Ebenfalls auf der Grundlage eines kompetitiven Antagonismus um Opiatbindungsstellen beruhen Radiorezeptorassays, wo etwa die Änderung der spezifischen $[^{3}H]$-Naloxonbindung an Hirnsynaptosomenfraktionen nach Zugabe der jeweiligen Testsubstanz ermittelt wird. Bei der Identifizierung und Klassifizierung von Opioidpeptiden stellen diese Verfahren eine essentielle Ergänzung von Radioimmunoassay und Chromatographieanalyse dar.

Nach und nach ergaben sich zahlreiche Hinweise auf Opioid-Interaktionen mit verschiedenen Neurotransmittern, wie Catecholaminen, Serotonin, Azetylcholin, GABA, VIP, Somatostatin, Substanz P und Histamin, die sowohl auf Beobachtungen im zentralen Nervensystem (DAVIES et al., 1976; STARKE, 1977; FERLAND et al., 1977; JHAMANDAS et al., 1977; POLLARD et al., 1977; ARBILLA et al., 1978; BIGGIO et al., 1978 a und b; NORTH, 1978; CHIHARA et al., 1978; HOLADAY et al., 1978b; ROTSZTEJN et al., 1978; SCHWARTZ et al., 1978; DEYO et al., 1979; ENJALBERT et al., 1979a und b; KOENIG et al., 1979; GOLD et al., 1979a; GUILLEMIN, 1979; HÖKFELT et al., 1979; MALFROY et al., 1979; SCHWARTZ, 1979; TACHÉ et al., 1979; VAN VUGT et al., 1979; ZETLER, 1979; GEORGE et al., 1980; HERZ et al., 1980; VAN LOON et al., 1980; MARWAHA et al., 1980; MORLEY, 1980; NICOLL et al., 1980; PEPPER et al., 1980; RISCH et al., 1980; SCHAZ et al., 1980; SCHOEMAKER et al., 1980; STINUS et al., 1980; WOOD et al., 1980), als auch in der Peripherie, besonders im Gastrointestinaltrakt (HUGHES et al., 1977; SCHULTZBERG et al., 1978b; NORTH, 1978; BODYCOTE et al., 1979; GILLAN et al., 1979; HÖKFELT et al., 1979; NORTH et al., 1979; ZETLER,1979; OKA, 1980; UDDMAN et al., 1980; OPMEER et al., 1980; NIJKAMP et al., 1980; KUMAKURA et al., 1980; HUGHES, 1981), basieren, und endogene Opiate in den Kreis von Stoffen einbeziehen lassen, die, vermutlich abhängig vom jeweiligen Vertreter, teils selbst als Überträgerstoffe von Nervenendigungen — vorwiegend hemmenden Einfluß auf

die Aktivität anderer Neurone nehmend — freigesetzt werden, teils neuromodulatorische Aktionen zu entfalten scheinen (DAVIES et al., 1976; NORTH et al., 1976; POLLARD et al., 1977; FREDERICKSON, 1977; HUGHES et al., 1977; SCHWARTZ et al., 1978; TERENIUS, 1978; NORTH, 1978; SCHULTZBERG et al., 1978a und b; OKA et al., 1979; MALFROY et al., 1979; ELDE, 1979; GUERRERO-MONOZ et al., 1979; HÖKFELT et al., 1979; SCHWARTZ, 1979; WILLIAMS et al., 1979; MARWAHA et al., 1980; YANG et al., 1980; BARKER et al., 1980; CARENZI et al., 1980; McKNIGHT et al., 1980; PEPPER et al., 1980; SNYDER, 1980; AMIR et al., 1980; OPMEER et al., 1980; OKA, 1980; NICOLL et al., 1980; HUGHES, 1981).

Des weiteren mögen sie als Hormon-Releasing- bzw. -Inhibiting-Faktoren agieren oder selbst Hormoncharakter beweisen, wobei die Zielorgane der etwa aus Hypophyse oder Nebenniere ins Blut entlassenen Opioide ungewiß sind (TERENIUS,1978; TESCHEMACHER, 1978; SCHULTZBERG et al., 1978a; COX et al., 1978; ELDE, 1979; TRAMU et al., 1979; ENJALBERT et al., 1979a und b; STERN et al., 1979; YANG et al., 1980; AMIR et al., 1980; ROSSIER et al., 1980a; HUGHES, 1981).

Fraglich ist noch immer, ob diesen Stoffen — wobei zunächst hauptsächlich hypophysäres ß-Endorphin in die Betrachtungen einbezogen wurde — überhaupt der "Terminus Hormon" gebührt, nachdem deren Blutkonzentrationen selbst nach Stimulation, wie beispielsweise im Stress, nicht hoch genug erscheinen,

eine effektive Opiatrezeptorbesetzung in peripheren Organen herbeiführen zu können, und zudem rasche, enzymatische Inaktivierung vermerkt wird.
Die Tatsache, daß daneben die Affinität von ß-Endorphin gegenüber peripheren Rezeptoren nicht sehr hoch ist (Vas deferens der Ratte: $K_d \sim$ 100 nM, dagegen im Gehirn: $K_d \sim$ 0,3 nM), und sich andererseits eine Permeation der Blut-Hirn-Schranke — mit Ausnahme des Hypothalamus — stark in Grenzen hält, läßt vermuten, daß zirkulierendes ß-Endorphin, vornehmlich Effekte auf die Hypothalamus-Hypophysenachse entwickelnd, an der Steuerung hormoneller Vorgänge teilhat (GRÄF, 1978; SCHULTZBERG et al., 1978a und b; AKIL et al., 1979; ELDE, 1979; KASTIN et al., 1979; KOSTERLITZ, 1979; RAPOPORT et al., 1980; HUGHES, 1981). Dafür spricht außerdem der Nachweis hoher Konzentrationen des Peptids im hypophysären Pfortadersystem (LISSITZKY et al., 1980).

Wie zahlreiche Untersucher zeigen konnten, äußert sich opioidinduzierte Beeinflussung der hypophysären Hormonausschüttung vielgestaltig und bleibt nicht auf Gonadotropin-, Prolactin-, ACTH-, Oxytozin- und Vasopressin-Sekretion, die in dieser Arbeit besondere Erwähnung finden, beschränkt, sondern dehnt sich z.B. auch auf Somatotropin bzw. TSH, im Sinne einer Stimulation bzw. Inhibition, aus (KOKKA et al., 1973; SHAAR et al., 1977;

BRUNI et al., 1977; CUSAN et al., 1977; TACHÉ et al., 1977; GRANDISON et al., 1977; 1980; GUILLEMIN et al., 1977; LABRIE et al., 1977; DUPONT et al., 1977; 1977b; 1979; 1980; FERLAND et al., 1977; 1978; CHIHARA et al., 1978; HALDAR et al., 1978; HART et al., 1978; YASUKAWA et al., 1978; MEITES et al., 1979; 1979a; VOLAYKA et al., 1979; KUSCHINSKY, 1979; KORDON et al., 1979; AKIL et al., 1979; DANTZER et al., 1979; CLARKE et al., 1979; BAIZMAN et al., 1979; GOLD et al., 1979; FRENCH et al., 1979; FOLEY et al., 1979; CHENG et al., 1979a; 1980; McKNIGHT et al., 1980; MEITES, 1980; MORLEY et al., 1980; VAN VUGT et al., 1980; AMIR et al., 1980; IVERSEN et al., 1980; CICERO, 1980; SARNE et al., 1981).

Dabei dürften Opioide über verschiedenartige, direkte oder indirekte Angriffspunkte innerhalb der jeweiligen Kontrollstufen für diese Hormone und offenbar eine Palette möglicher Aktionsmechanismen verfügen.

Opioiderge Wechselwirkungen mit weiteren Hormonen, wie Gonadensteroiden (BLANK et al., 1979; HAHN et al., 1979; CICERO, 1980; QUIGLEY et al., 1980), Corticosteroiden (HOLADAY et al., 1977; VOLAYKA et al., 1979; SIMANTOV, 1979; FRENCH et al., 1979; SABOL, 1980; SIMANTOV et al., 1980; CHENG et al., 1980; ROSSIER et al., 1980a; RISCH et al., 1980; MORLEY et al., 1980; HUGHES, 1981), Catecholaminen (SCHULTZBERG et al., 1978a; STERN et al., 1979; WILSON et al., 1980; KUMAKURA et al., 1980; YANG et al., 1980; AMIR et al., 1980; HUGHES, 1981), Calcitonin

(GUILLEMIN, 1979), Glukagon und Insulin (IPP et al., 1978; HART et al., 1978; BRUNI et al., 1979; GUILLEMIN, 1979; AMIR et al., 1980; CELOTTI et al., 1980; HUGHES, 1981), scheinen zumindest teilweise sekundärer Natur zu sein, d.h. durch Eingreifen in übergeordnete, neuroendokrine Steuerungssysteme zustande zu kommen. Bisher sind jedoch Antworten auf die Frage nach dem Wo und Wie noch ebenso lückenhaft, wie letztlich die Kenntnisse über physiologische (und pathologische) Gegebenheiten, unter welchen derartige Interaktionen statthaben.

Kristallisiert sich für einige Parameter eine tonische Kontrollfunktion endogener Opiate — aufgezeigt durch die Fähigkeit von Opiatantagonisten, allein verabreicht, ein meßbares Echo zu erzielen — heraus, deuten sich andererseits ein situationsabhängig modulierter Aktivierungsgrad bzw. eine in Ausnahmezuständen erfolgende Ingangsetzung sonst "schweigender", opioiderger Systeme an.
Besonders im Rahmen einer weitgefächerten Stress-Defensive des Organismus dürften endogene Opiate eine zentrale Rolle spielen, die sich in vielfältiger Beteiligung dieser Stoffe an stressreaktiven Veränderungen im Körper widerspiegelt. So läßt sich auf unterschiedlichen Angriffspunkten basierende, von Art, Intensität, Zeitpunkt und Dauer einwirkender Stressoren abhängige, opioiderge Beeinflussung von Schmerzempfindung, Verhaltensmustern, Kreislauf, Atmung,

gastrointestinaler Motilität und Sekretion, Körpertemperatur und Energiestoffwechsel verzeichnen (KNOLL, 1976; LICHTBLAU et al., 1977; MADDEN et al., 1977; GREVERT et al., 1977; MITZNEGG et al., 1977; ROSSIER et al., 1977a; 1979a; 1980a; GUILLEMIN et al., 1977; HOLADAY et al., 1977; 1978a und b; KONTUREK et al., 1978; MOSS et al., 1978; HANKO et al., 1978; FREDERICKSON, 1978; TERENIUS, 1978; TESCHEMACHER, 1978; YASUKAWA et al., 1978; VON KNORRING et al., 1978; IPP et al., 1978; WESCHE et al., 1979; BODYCOTE et al., 1979; AKIL et al., 1979; BRUNI et al., 1979; LE MOAL et al., 1979; OLSON et al., 1979; SPIAGGIA et al., 1979; SHAW, 1979; KRIEGER et al., 1979b; KOSTERLITZ, 1979; MARGULES, 1979; BLÄSIG et al., 1979; GUILLEMIN, 1979; JACQUET, 1979; KATZ et al., 1979; RAMABADRAN et al., 1979; KING et al., 1979; AMIR et al., 1980; WEISBRODT et al., 1980; HERZ et al., 1980; CELOTTI et al., 1980; HERNÁNDEZ et al., 1980; STINUS et al., 1980; TSENG et al., 1980; WEI et al., 1980; HUIDOBRO-TORO et al., 1980; JEAN-BAPTISTE et al., 1980; KORCZYN et al., 1980; LIN et al., 1980; RILEY et al., 1980; KUMAKURA et al., 1980; MORLEY, 1980; PASCAUD et al., 1980; ROZÉ et al., 1980; RISCH et al., 1980; SHERMAN et al., 1980; SCHAZ et al., 1980; WHARTON et al., 1980; HUGHES, 1981; KIRBY, 1981).

Die Beobachtung, daß unter extremen Stressbedingungen, wie im Schock, opioidinduzierte Hypotonie (KNOLL, 1976; HANKO et al., 1978; KONTUREK et al., 1978; HOLADAY et al., 1978a; SCHAZ et al., 1980; WEI et al., 1980; KUMAKURA et al., 1980;

HERNÁNDEZ et al., 1980; FADEN et al., 1980; HUGHES, 1981) offenbar zu einer gravierenden Verminderung der Überlebenschance Anlaß gibt, endogenen Opiaten dabei also pathophysiologische Bedeutung zufällt, bringt sogar den Gedanken auf, daß der Körper hiermit über ein Schutzsystem verfügt, das — im Grunde schädliche Stressauswirkungen auf den Organismus abmildernd — "... may contribute to a peaceful death in an animal that has been mortally injured" (FADEN et al., 1980).

1.3. VORBEMERKUNGEN ZU DIESER ARBEIT

Nach der Entdeckung endogener Opiate vor rund 5 Jahren war das Hauptaugenmerk der Grundlagenforschung, neben der Ermittlung chemischer, biochemischer und pharmakologischer Daten für diese Stoffe, auf deren analgetische Wirkungskomponente, wie die Hoffnung gerichtet, in körpereigenen Opioiden Substanzen mit schmerzschwellenerhöhenden Effekten bei fehlendem Suchtpotential gefunden zu haben.

Erst relativ spät begannen zahlreiche Arbeitsgruppen, in den Bereichen nach physiologischen Funktionen endogener Opiate zu suchen, wo bereits "Nebenwirkungen" von Morphin bekannt waren. Daher konzentrieren sich die Veröffentlichungen, die eine Beteiligung endogener Opiate an der neuroendokrinen Kontrolle der Reproduktion demonstrieren, vornehmlich auf die letzten zwei bis drei Jahre, wobei die überwiegende Mehrzahl der gewonnenen Resultate auf Untersuchungen an Ratten basiert, derzeit also eine Übertragung der Ergebnisse auf andere Spezies nur unter Vorbehalt möglich ist.

So wurde mit dieser Arbeit der Versuch unternommen, frühzeitig eine zusammenfassende Darstellung der Experimente zu bringen, die auf die Bedeutung endogener Opiate im Rahmen des Fortpflanzungsgeschehens hinweisen, und dadurch möglicherweise den Anstoß zu geben, in der Veterinärmedizin die Forschung auf diesem Sektor aufzunehmen und auf andere Spezies auszudehnen.

In verschiedenen Kapiteln finden jeweils in entsprechendem Zusammenhang interessierende Ergebnisse jüngster Grundlagenforschung aus "benachbarten" Bereichen, so beispielsweise hinsichtlich der Prolactin- bzw. Gonadotropinsteuerungsmechanismen oder der pubertätsinduzierenden Vorgänge Erwähnung. Obwohl damit stellenweise das eigentliche Thema der Arbeit verlassen wird, erschien es doch sinnvoll, soweit möglich, den neuesten, in den letzten Jahren nahezu explosionsartig gewachsenen Kenntnisstand über Gebiete miteinzubeziehen, in die endogene Opiate vielfältig einstrahlen, um dadurch das aktuelle, reproduktionsneuroendokrinologische Erscheinungsbild farbiger gestalten zu können.

2. BEEINFLUSSUNG HYPOPHYSÄRER HORMONFREISETZUNG DURCH ENDOGENE OPIATE — PILOTVERSUCHE —

2.1. GONADOTROPINSEKRETION

Einer ganzen Reihe früher Arbeiten, die sich mit den endokrinen Nebenwirkungen von Morphin und verwandten Drogen befassen, sind bereits Hinweise auf eine Beeinflussung des Serum-Gonadotropin- bzw. -Gonadensteroidspiegels durch diese Substanzen zu entnehmen.
Beispielsweise wies BARRACLOUGH schon 1955 (BARRACLOUGH et al., 1955), rund 20 vor Entdeckung der endogenen Opiate, darauf hin, daß Morphin — injiziert während der "kritischen Periode" am Nachmittag des Proöstrus — bei Ratten die Ovulation verhindern konnte.
Auswirkungen chronischer Heroin-, Morphin- oder Methadonapplikation auf Reproduktionsfunktionen beim Menschen sind seit geraumer Zeit bekannt. Während sich bei männlichen Drogenabhängigen Depression des Serum-Testosteronspiegels, wie merkliche Gewichtsreduktion von Samenblasendrüsen und Prostata nachweisen lassen, macht sich bei narkotikasüchtigen Frauen zunehmendes Auftreten von Amenorrhoe, Infertilität und Spontanaborten bemerkbar.
Nachdem sich nun im Rahmen der Grundlagenforschung auf dem Gebiet der endogenen Opiate immer mehr gezeigt hatte, daß die Wirkungen dieser körpereigenen Stoffe großteils durch exogene Opiate reproduzierbar, und durch spezifische Morphinantagonisten aufzuheben sind, taten sich auch auf

dem Endokrinologiesektor viele Möglichkeiten auf, durch Pilotversuche dem Verständnis der physiologischen Funktionen dieser Substanzen näher zu kommen.

2.1.1. Versuche an männlichen Ratten

Bisher wurden die weitaus meisten Versuche zur Abklärung von Einwirkungen endogener Opiate auf die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse an männlichen Ratten vorgenommen.

In einer der ersten, in diesem Zusammenhang durchgeführten Untersuchungsreihe testeten BRUNI et al. (1977) die Effekte von Methionin-Enkephalin, Morphin und Naloxon in verschiedenen Dosen, sowie von simultan verabfolgten Kombinationen dieser Substanzen auf die Ausschüttung einiger Hypophysenvorderlappenhormone, unter anderem der Gonadotropine.

Sie verwendeten männliche Ratten, die 20 Minuten nach der jeweiligen, i.p. erfolgenden Drogenapplikation dekapitiert wurden. Die Serum-LH- und -FSH-Bestimmung erfolgte mittels Standard-Radioimmunoassay (RIA). Tabelle 1 zeigt die für LH und FSH 20 Minuten nach Applikation der Testsubstanzen erhaltenen Daten im Vergleich zu Kontrolltieren.

Die Ergebnisse beweisen, daß sowohl Morphin (2 und 10 mg/kg), wie Methionin-Enkephalin (5 mg/kg) in der Lage sind, den Serum-LH-Spiegel zu senken, während Naloxon (0,2;

Tabelle 1: Effekt von Morphinsulfat, Methionin-Enkephalin und Naloxon, 20 Minuten nach i.p. Injektion, auf die Serum-LH- und -FSH-Konzentration männlicher Ratten

(nach BRUNI et al., 1977)

Gruppe (n = 10)	Serum-LH (ng/ml)	Serum-FSH (ng/ml)
Kontrolle: 0,87 % NaCl	19 ± 1	341 ± 12
Naloxon: 0,2 mg/kg	44 ± 5*	361 ± 15
Naloxon: 2,0 mg/kg	52 ± 8*	490 ± 36*
Naloxon: 5,0 mg/kg	45 ± 8*	446 ± 29*
Morphin: 2,0 mg/kg	8 ± 1*	340 ± 12
Morphin: 10,0 mg/kg	9 ± 2*	387 ± 23
Morphin: 15,0 mg/kg	13 ± 2	333 ± 13
Met-Enk.: 5,0 mg/kg	11 ± 2*	314 ± 20
Nal. u. Mor.: 0,2 + 2,0 mg/kg	17 ± 3	384 ± 9
Nal. u. Mor.: 0,2 + 10,0 mg/kg	14 ± 4	369 ± 16
Nal. u. Met-Enk. 0,2 + 5,0 mg/kg	17 ± 3	350 ± 18

* $p < 0,05$ im Vergleich zu Kontrollwerten

2; 5 mg/kg), allein verabreicht, einen signifikanten LH-Anstieg induziert und, in Kombination mit Morphin bzw. Met-Enkephalin, deren Effekte teilweise bzw. völlig antagonisiert. Im Kontrast dazu verhält sich der FSH-Spiegel gegenüber den Opiaten (in allen gewählten Dosierungen) neutral, beantwortet jedoch die Applikation von 2 bzw. 5 mg Naloxon mit einem signifikanten Anstieg. Erstaunlicherweise bleibt ein signifikanter Effekt auf LH nach Verabreichung von 15 mg/kg Morphin aus.

Aus ihren Resultaten leiten BRUNI et al. (1977) ab, daß Morphin und Met-Enkephalin angesichts ihrer ähnlichen Auswirkung auf die Gonadotropinfreisetzung, ein gemeinsamer Wirkungsmechanismus zugrunde liegt. Die Fähigkeit von Naloxon, nicht nur Effekte exogen zugeführter Opiate aufzuheben, sondern, allein verabreicht, eine Reaktion seitens LH und FSH auslösen zu können, interpretieren sie als Hinweis auf eine physiologische Rolle endogener Opiate bei der Aufrechterhaltung der basalen Gonadotropinfreisetzung männlicher Ratten.

Zunächst ausgehend von den narkotikainduzierten Testosteron-Blutspiegelveränderungen, baut CICERO (CICERO, 1977; 1980; CICERO et al., 1976a und b; 1977 a und b; 1979; 1980) sein Betreben, dem Opioid-Angriffspunkt innerhalb der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse auf die Spur

zu kommen, von anderer Richtung her auf.

Die Beobachtung, daß bereits eine einzige Morphininjektion bei Menschen wie Nagern in der Lage ist, innerhalb von 1-2 Stunden einen Serum-Testosteronabfall auszulösen, der nach 3-4 Stunden sein Maximum erreicht (Abb. 7), läßt ihn zunächst drei mögliche Narkotikawirkungsmechanismen in Betracht ziehen:

a) Beeinflussung von Verfügbarkeit, Umsatzgeschwindigkeit und Abbaurate von Androgenen in ihren Zielorganen bzw. der Leber;

b) Direkte Hemmung der testikulären Steroidogenese;

c) Einflußnahme auf hypothalamischer und/oder hypophysärer Ebene mit sekundärer Reduktion der LH-abhängigen Testosteronsynthese.

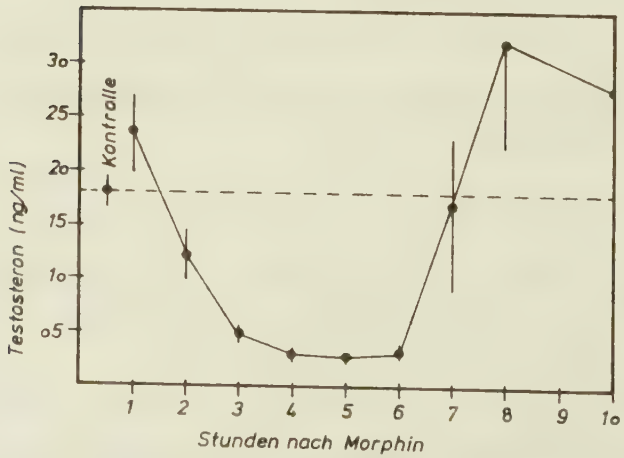


Abb. 7: Auswirkung von Morphin (10 mg/kg s.c.) auf den Serum-Testosteronspiegel männlicher Ratten im Vergleich zu Kontrolltieren (jeder Punkt stellt den Mittelwert aus 8-10 Bestimmungen dar) (nach CICERO et al., 1976a und b).

Eine opioidbedingte Steigerung des Steroidkatabolismus in der Leber kann ebenso, wie eine Änderung von Testosteronaufnahme, -metabolismus oder biochemischen Effekten im Bereich der Zielorgane, aufgrund zahlreicher in-vitro- und in-vivo-Versuche mit einiger Sicherheit ausgeschlossen werden (CICERO et al., 1976a und b; 1977a und b).

Tests an hypophysektomierten, — zur Aufrechterhaltung einer normalen Hodenfunktion— HCG-substituierten Ratten, die Auskunft geben sollten, ob und inwieweit ein Narkotikaeffekt auf die testikuläre Steroidsynthese zu erwarten ist, führten zu dem Resultat, daß Narkotika keinen direkten Einfluß auf die Gonaden nehmen, und folglich, um einen Serum-Testosteronabfall verursachen zu können, auf eine intakte Hypophyse angewiesen sind. Entsprechend erbrachten in-vitro-Untersuchungen an Rattenhoden weder eine Hemmung der basalen, noch der HCG-stimulierten Testosteronproduktion durch Opiate.

Aus diesen Ergebnissen konnte nun der Schluß gezogen werden, daß die opiatinduzierte Reduktion des Testosteronblutspiegels ein wohl ausschließlich sekundäres Ereignis darstellt, dem eine Einwirkung auf Hypothalamus-Hypophysen-LH-Achse vorausgeht.
Diese Annahme findet CICERO (CICERO et al., 1977a und b) bekräftigt, indem er bei männlichen Ratten auf Morphinapplikation (10 mg/kg s.c.) einen Serum-LH-Abfall vermerkt, der 30-45 Minuten post iniectionem einsetzend,

sein Maximum nach ca. eineinhalb bis zwei Stunden erreicht, die Testosteronreaktion also deutlich hinterherhinken läßt.
Dagegen stellt sich heraus, daß Naloxon (2 mg/kg s.c.) bei diesen Tieren den Höhepunkt seiner LH-Spiegel hebenden Wirkung bereits 20 Minuten nach Verabreichung entfaltet (CICERO et al., 1979).

Eine Bestätigung dafür, daß Morphin und Naloxon ihre konträren Effekte auf LH über dieselben Rezeptoren vermitteln, suchte CICERO (CICERO et al., 1979) durch Experimente an männlichen Ratten, denen er zunächst Morphin in verschiedenen Dosen (25-100 mg/kg) und 10 Minuten später Naloxon (1 mg/kg) s.c. applizierte; 20 Minuten nach der Naloxoninjektion bestimmte er die Serum-LH-Konzentrationen.
Er fand, daß Morphin, 30 Minuten post iniectionem, mit steigender Dosierung eine zunehmende Hemmwirkung auf den naloxoninduzierten LH-Anstieg entfaltet, daß es dagegen, allein verabreicht, unabhängig von der applizierten Menge, zu diesem Zeitpunkt noch kein signifikantes Absinken des LH-Spiegels provoziert (Abb. 8).

Seine Resultate stehen damit in gewissem Widerspruch zu den Ergebnissen von BRUNI et al. (1977) (vgl. Tabelle 1), die mit wesentlich niedrigeren Morphindosierungen (2 mg und 10 mg/kg) bereits 20 Minuten nach intraperitonealer

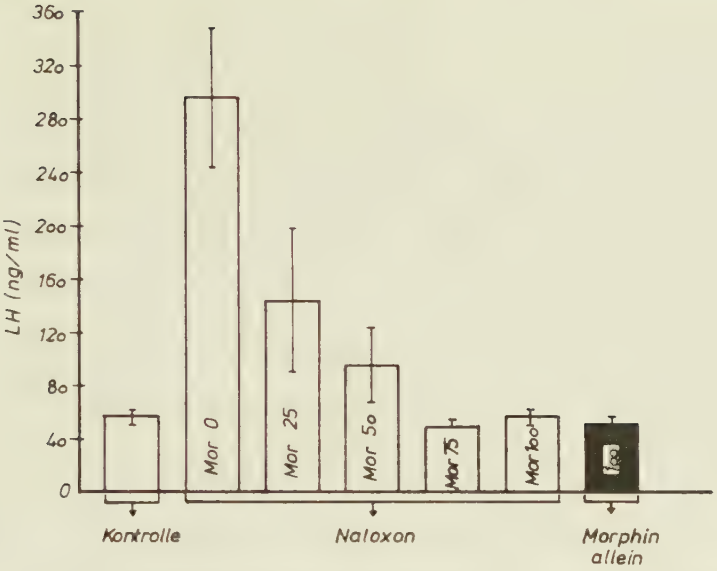


Abb. 8: Beeinflussung der naloxoninduzierten Serum-LH-Erhöhung männlicher Ratten 20 Minuten p.i. durch Applikation von Morphin in verschiedenen Dosen (25-100 mg/kg s.c.) jeweils 10 Minuten vor Naloxon (1 mg/kg s.c.) (n = 8-10 für jede Säule). (nach CICERO et al., 1979)

Injektion einen deutlichen LH-Abfall bei männlichen Ratten registrieren. Dagegen bleibt auch hier bei höherer Morphindosis (15 mg/kg) der Effekt aus.

Für die Aufhebung der Naloxonwirkung (0,2 mg/kg) genügen BRUNI bereits 2 mg/kg Morphin bei simultaner Applikation mit dem Opiatantagonisten.

Des weiteren sei auf die sehr unterschiedlichen LH-Kontrolldaten beider Arbeitsgruppen hingewiesen. Können BRUNI et al. (1977) 19 ng/ml als Vergleichswert notieren, so geht CICERO (CICERO et al., 1979) bereits von nahezu

60 ng/ml aus. Angesichts der Tatsache, daß erstere durchaus in der Lage sind, ein Absinken der LH-Konzentration auf unter 10 ng/ml noch festzustellen, erscheinen von CICERO in Betracht gezogene, methodische Schwierigkeiten als Erklärung für die fehlende Registrierbarkeit eines Morphineffektes, 30 Minuten post iniectionem, nicht ganz einleuchtend.

Da sich in beiden Veröffentlichungen leider weder Hinweise auf das Alter der verwendeten Versuchstiere finden, noch auf die Tageszeit, zu der die Blutprobenentnahme erfolgte, ist die Möglichkeit einer dahingehenden Interpretation der abweichenden Resultate ausgeschlossen.

2.1.2. Versuche am Menschen

Auswirkungen auf die Gonadotropinsekretion beim Menschen durch Naloxon — in seiner Eigenschaft als Opiatrezeptor-blocker — untersuchten MORLEY et al. (1980). Als Versuchspersonen stellten sich sieben Männer zur Verfügung, die jeweils nüchtern, um ca. 9.00 Uhr morgens, eine Injektion von 10 mg Naloxon i.v., bzw. an einem anderen Testtag als Kontrolle 1 ml physiologische Kochsalzlösung erhielten. Die Blutentnahme (Venenkatheter) zur Gonadotropinspiegelanalyse (RIA) erfolgte 15 Minuten, unmittelbar vor (= Zeit 0), sowie 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten nach der Injektion.

Aus den gewonnenen Daten angefertigte FSH- und LH-Kurven ergeben nach Naloxonapplikation signifikante Abweichungen von den Kontrollwerten (Abb. 9). LH demonstriert einen

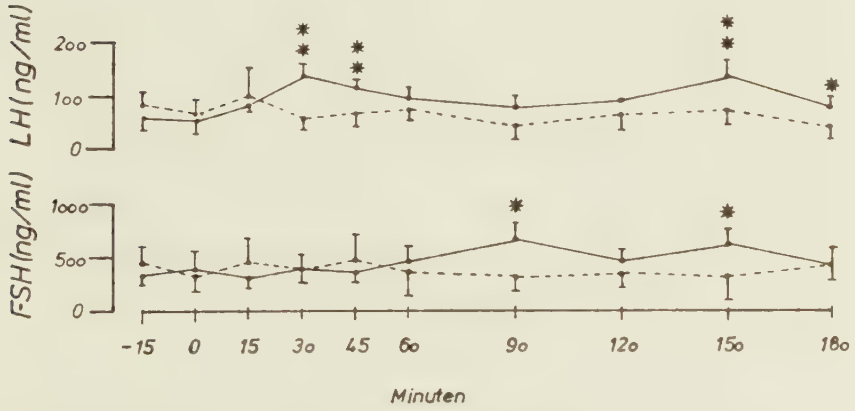


Abb. 9: Effekt von 10 mg Naloxon i.v. (Zeit 0) auf Serum-LH- und -FSH-Spiegel beim Mann im Vergleich zu Kontrollwerten.
** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ (nach MORLEY et al., 1980)

biphasischen Anstieg, der von FSH etwas später angedeutet wird. Aus den zeitlichen Verlaufsmustern läßt sich —angesichts der typisch verzögerten FSH-Reaktion— ein Hinweis auf primär erfolgte LHRH-Stimulation durch Naloxon ableiten.

Ebenfalls an sieben Männern prüften MENDELSON et al. (1979) den Effekt von Naltrexon, einem Naloxon strukturell verwandten Opiatantagonisten, auf die LH-Sekretion. Die Testpersonen bekamen an zwei Tagen im Abstand von einer Woche morgens alternativ 50 mg Naltrexon oder Placebo per os. Über 8 Stunden wurden in 20-minütigen Abständen Blutproben zur LH-Analyse gewonnen. Durch Bildung der Integralwerte für Serum-LH-Test- und Kontrollkurven sollte täglichen Schwankungen des LH-Spiegels Rechnung getragen werden. Es ergibt sich nach Naltrexon ein mittlerer LH-Konzentrationszuwachs von 49,8 % im Vergleich zu den integrierten Plasmawerten nach Placebo.

An dieser Stelle sei am Rande erwähnt, daß vom gleichen Autorenteam (MENDELSON et al., 1980) an sechs drogensüchtigen Männern Effekte akuter und chronischer Heroin- (10 mg i.v.) und Naltrexonapplikation (50 mg p.o.) auf Plasma-LH- und Testosteronspiegel untersucht wurden.

Es konnte gezeigt werden, daß sich auch im Hinblick auf die LH-Reaktion, in die Testosteron zeichens seiner Feed-

backaktion einbezogen ist, nach chronischer Gabe von Opiatagonist wie -antagonist das Phänomen der Toleranzentwicklung bemerkbar macht.

Insgesamt sind jedoch Studien an drogenabhängigen Personen denkbar ungeeignet, Hinweise auf spezifische Wirkungen von Opiaten bzw. Naloxon zu geben. Sei es aufgrund der meist nur ungenauen Informationen über Dauer des Drogenabusus, Höhe der verwendeten Dosen, Häufigkeit der Applikation, Grad der physischen Abhängigkeit, sei es durch Verzerrung des Bildes wegen Mißbrauchs der unterschiedlichsten Substanzen oder wegen des unausbleiblichen Auftretens pathologischer Organveränderungen, es kann schließlich nicht mehr von Abweichungen im endokrinen Geschehen auf einen speziellen Drogeneffekt geschlossen werden. Zum anderen verfügt gerade die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse über eine bemerkenswerte Plastizität, die sich, nicht zuletzt kraft kompensatorischer wie modifizierender Eigenschaften der Feedbackmechanismen, in einer ausgleichenden Anpassung an veränderte Gegebenheiten äußert, und somit die Interpretation hormoneller Daten erschwert.

2.2. PROLACTINSEKRETION

Auch bei Prolactin war — ähnlich wie bei den Gonadotropinen — schon lange vor Entdeckung der endogenen Opiate bekannt, daß Morphin dessen Sekretion zu beeinflussen vermag.
So berichtete MEITES 1962 von morphininduzierter Ingangsetzung der Laktation bei östrogenvorbehandelten Ratten, und führte diesen Effekt auf eine Stimulation der Prolactinfreisetzung zurück. Durch spätere Untersuchungen mittels Radioimmunoassay wurde seine Vermutung bestätigt (CLEMENS et al., 1974; McCANN et al., 1974).
Bald darauf zeigte sich wiederum, daß damit von Morphin ein Effekt endogener Opiate "nachgeahmt" wird, diese Substanzen also auch an der Prolactinkontrolle Anteil zu nehmen scheinen.

Die Bedeutung von Prolactin als laktogenes Hormon und wesentlicher Faktor bei der Steuerung der Reproduktion dürfte, trotz ganz erheblicher Speziesunterschiede, die immer wieder zu Verwirrungen geführt haben, unumstritten sein. Darüberhinaus werden dem Proteohormon bei allen Wirbeltierklassen zahllose Wirkungen zugeschrieben, die ebenso wie Funktionieren und Bedeutung der diversen Prolactin-Freisetzungsstimuli bis heute mit vielen Fragezeichen versehen sind. Somit ist es nicht verwunderlich, daß das Problem, endogenen Opiaten einen physiologischen

Stellenwert im Rahmen der Prolactinregulation zuzuweisen, von den verschiedensten Richtungen aus angegangen wurde.

2.2.1. Versuche an Ratten

In einer Pilotversuchsserie erfuhren Methionin-Enkephalin, Morphin und Naloxon eine vergleichende Prüfung hinsichtlich ihrer Effekte auf den Serum-Prolactinspiegel männlicher Ratten (BRUNI et al., 1977).
Die Blutgewinnung zur Prolactinanalyse (RIA) erfolgte 20 Minuten nach i.p. Injektion der jeweiligen Drogen bzw. von Kombinationen derselben durch Dekapitation der Tiere. Tabelle 2 demonstriert, daß Morphin (10 und 15 mg/kg) einen deutlichen Prolactinanstieg induziert, während Met-Enkephalin (5 mg/kg), ähnlich wie die 2 mg-Dosis Morphin, zwar dem Trend folgt, jedoch keine signifikante Prolactinerhöhung zu erzielen vermag. Naloxon (0,2 mg/kg) stellt auch hier seine opiatantagonisierende Wirkung heraus, und zeigt sich zudem in der Lage, allein verabreicht, eine signifikante Depression des Prolactinspiegels zu verursachen, die durch höhere Naloxongaben (2 und 5 mg/kg) offenbar kaum mehr überboten wird.

Tabelle 2: Effekt von Morphinsulfat, Methionin-Enkephalin und Naloxon, 20 Minuten nach i.p. Injektion, auf die Serum-Prolactinkonzentration männlicher Ratten (nach BRUNI et al., 1977):

Gruppe (n = 10)	Serum-Prolactin (ng/ml)
Kontrolle: 0,87 % NaCl	9,0 ± 0,4
Naloxon: 0,2 mg/kg	4,6 ± 0,4*
Naloxon: 2,0 mg/kg	4,2 ± 0,3*
Naloxon: 5,0 mg/kg	4,0 ± 0,3*
Morphin: 2,0 mg/kg	10,1 ± 0,8
Morphin: 10,0 mg/kg	20,2 ± 2,3*
Morphin: 15,0 mg/kg	18,5 ± 1,2*
Methionin-Enkephalin: 5,0 mg/kg	11,5 ± 0,6
Naloxon u. Morphin: 0,2 + 2,0 mg/kg	3,6 ± 0,4*
Naloxon u. Morphin: 0,2 + 10,0 mg/kg	9,0 ± 1,1
Naloxon u. Met-Enk.: 0,2 + 5,0 mg/kg	5,4 ± 0,8*

* $p < 0,05$ im Vergleich zu Kontrollwerten

Zu ähnlichen Resultaten gelangten SHAAR et al. (1977), die für ihre Experimente juvenile (29 Tage), weibliche Ratten zur Verfügung hatten, welche ebenfalls 20 Minuten post iniectionem (s.c.) dekapitiert wurden. Nachdem hier Met-Enkephalin (10 mg/kg) keinen Effekt gegenüber Kontrolltieren (1 ml physiologische NaCl-Lösung s.c.) bringt, prüften sie die Wirksamkeit von zwei längerlebigen, N-terminal vor Degradierung geschützten Enkephalin-Analogen (D-Ala^2-Met^5-Enkephalinamid und D-Ala^2-Leu^5-Enkephalinamid) auf die Prolactinfreisetzung im Vergleich zu Morphin in je drei verschiedenen Dosierungen (1; 3 und 10 mg/kg). Aus den daraus erstellten Dosis-Wirkungskurven läßt sich ablesen, daß alle drei Drogen einen signifikanten Prolactinanstieg hervorrufen können (Abb. 10a).
Entsprechend wurden für Naloxon in Bezug auf seine, den Basalprolactinspiegel reduzierende, wie auf seine antagonisierende Aktion — bei simultaner Applikation mit den Opioiden (je 10 mg/kg) — Dosiswirkungskurven ermittelt. Abbildung 10b ist zu entnehmen, daß Naloxon einen biphasischen Effekt auf die basale Plasma-Prolactinkonzentration hat, bei von 0,04-0,2 mg/kg zunehmender, dann abfallender, und ab ca. 1 mg/kg ausbleibender Hemmwirkung. Darüberhinaus zeigt sich, daß die opioidantagonisierenden Effekte von Naloxon schon bei einer Dosis von 0,01 mg/kg auftauchen, die Maximalwirkung — wie bei der direkten Prolactinhemmung beobachtet — mit 0,2 mg/kg erzielt wird und höhere Dosen (bis 4 mg/kg) keine weitere Steigerung

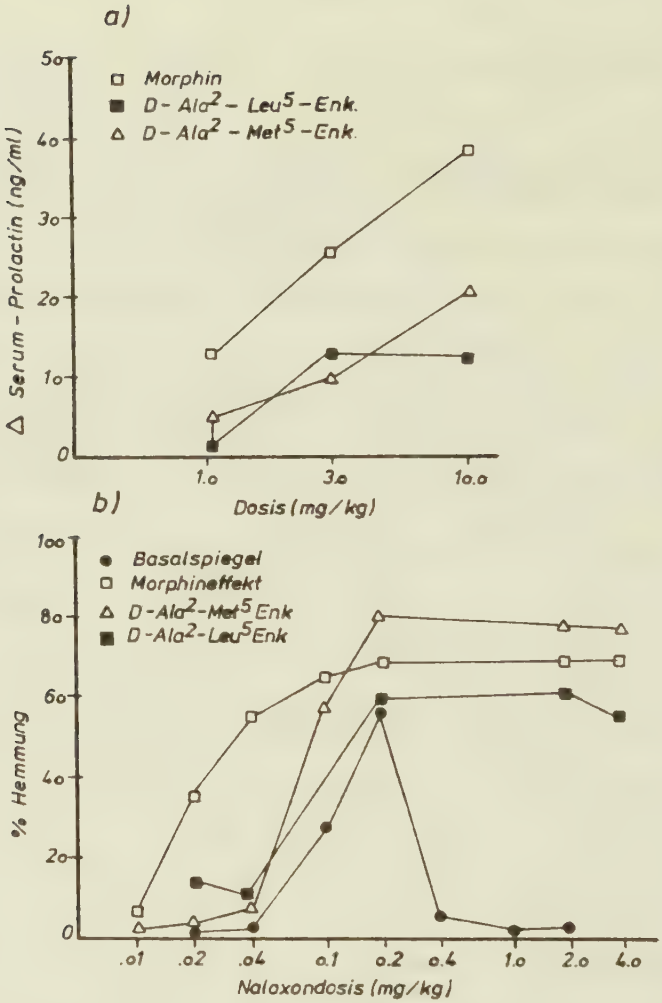


Abb. 10: Dosiswirkungskurven (nach SHAAR et al., 1977)

a: für Morphinsulfat, D-Ala^2-Met^5-Enkephalinamid und D-Ala^2-Leu^5-Enkephalinamid hinsichtlich ihres stimulierenden Effektes auf die Plasma-Prolactinkonzentration juveniler, weiblicher Ratten 20 Minuten nach s.c. Applikation.

b: für Naloxon bezüglich seines hemmenden Einflusses auf den basalen Prolactinspiegel, wie seiner antagonisierenden Effekte auf den opioidinduzierten Plasma-Prolactinanstieg juveniler, weiblicher Ratten 20 Minuten nach s.c. Applikation allein bzw. simultan mit den Opioiden (je 10 mg/kg).

(n = 8 für jeden Punkt)

mehr bringen (SHAAR et al., 1977).
Beachtenswert ist einmal, daß Morphin (10 mg/kg) bei simultaner Applikation mit 0,04 mg/kg Naloxon bereits rund 50 % seines Effektes einbüßt, während die gleiche Naloxondosis nur etwa 10 % Wirkungsverlust der Enkephalin-Analogen und noch keine Abweichung der basalen Hormonwerte provoziert. Insgesamt wird in diesen Experimenten die opioidinduzierte Prolactinstimulation durch Naloxon zu maximal 60 - 80 % gehemmt.

Der von SHAAR et al. (1977) bei juvenilen, weiblichen Ratten vermerkte Aktivitätsverlust von Naloxon hinsichtlich seiner Wirkung auf die basale Prolactinkonzentration in Dosen über 0,2 mg/kg, mit ausbleibendem Echo bei 1 mg/kg, wird von BRUNI et al. (1977) bei männlichen Ratten in dieser Form nicht beobachtet (Vgl. Tabelle 2). Zwar registrieren sie in Relation zu den steigenden Naloxongaben keinen nennenswerten Effektgewinn mehr, doch liegt der Prolactinwert nach 5 mg in etwa gleich mit dem nach 0,2 mg Naloxon. Worauf diese Abweichungen beruhen, ist unklar, doch spielen möglicherweise Applikationsart (s.c. bzw. i.p.), Alter und Geschlecht der Tiere eine Rolle.
Dessen ungeachtet lassen die Ergebnisse beider Arbeitsgruppen darauf schließen, daß endogenen Opiaten bei Ratten für die Aufrechterhaltung der basalen Prolactinsekretion physiologische Bedeutung zukommt.

Einem weiteren Aspekt schenken Untersuchungen an männlichen Ratten Beachtung, die — basierend auf häufigeren Blutentnahmen (Jugular- bzw. Artrialdauerkatheter) — von der jeweils applizierten Droge gezeichnete Prolactin-Zeit-Kurven ermitteln.

Demgemäß wurde Morphin in einer Dosis von 0,25, 1,0 und 3,0 mg/kg auf seinen Prolactineffekt 10, 30 und 60 Minuten nach intravenöser Verabreichung (KOENIG et al., 1979), bzw. von 5, 25, 40, 75 und 100 mg/kg, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 und 120 Minuten nach intravenöser oder subcutaner Injektion getestet (DUPONT et al., 1979). Im Anschluß an jede Blutentnahme erfolgte eine entsprechende Volumensubstitution mit physiologischer NaCl-Lösung.
Es zeigt sich, daß der Prolactinspiegel auf niedrige Morphindosen (0,25 und 1 mg/kg) lediglich die Tendenz einer Erhöhung andeutet, während er auf höhere ($\geqslant$ 3 mg/kg) — wenn auch graduell verschieden — stets mit raschem, steilem, relativ kurzlebigem Peak, und bald danach progressiver Rückkehr zum Ausgangsniveau antwortet. Dabei läßt sich vermerken, daß mit zunehmender Dosis der Gipfel etwas später (bei 3 und 5 mg/kg nach 10, bei 25 und 40 mg/kg nach 15, bei 75 und 100 mg/kg nach 30 Minuten) erreicht, und das Einpendeln auf Basalwerte entsprechend hinausgezögert wird, wobei in allen Fällen nach ca. 60-90 Minuten — bei 3 und 5 mg/kg schon früher — mit einer Normalisierung der Serum-Prolactinkonzentration zu rechnen ist.

Ungeachtet der zweifellos vorhandenen Bedeutung der Untersuchungen, vor allem auch für die Beurteilung von Resultaten weiterführender Experimente in Abhängigkeit von der Morphinapplikationszeit, sei darauf hingewiesen, daß — bei prinzipiell übereinstimmendem Kurvenmuster und durchaus vergleichbaren Ausgangsdaten — die nach Verwendung ähnlicher Dosen von den verschiedenen Autoren registrierten Prolactinmaxima ganz enorm voneinander abweichen. So erzielt DUPONT (DUPONT et al., 1979) mit 5 mg/kg Morphin, 10 Minuten post iniectionem (i.v. oder s.c.), ca. 3-fachen, während KOENIG (KOENIG et al., 1979) mit nur 3 mg/kg (i.v.) rund 9-fachen Plasmaprolactinanstieg notiert, und damit in etwa an Zahlen herankommt, die DUPONT nach 75 mg/kg Morphin als Peak aufschreibt. Worauf diese auffälligen Differenzen beruhen, ist schwer zu sagen, zumal beide Untersucher auf Basalwerte zwischen 10 und 20 ng Prolactin/ml Plasma, und daneben fast identische Experimentbedingungen aufbauen.

Morphin (10^{-9} und 10^{-8} Mol), in den lateralen Ventrikel männlicher Ratten appliziert, führt ebenfalls zu erheblicher Stimulation der Prolactinausschüttung mit bei 10 bis 20 Minuten post iniectionem erscheinendem Peak (CHIHARA et al., 1978).

Eine ganze Reihe von Untersuchungen umfaßt die Prolactinspiegelverlaufskontrolle nach intracerebroventrikulärer Applikation verschiedener Opioidpeptide in variierenden Dosen bei männlichen Ratten (ca. 8-10 Tiere pro Test).

Um Stresseinwirkungen so gering als möglich zu halten, gewöhnte man die Tiere eine Woche lang an Handhabungen, bevor ihnen Dauerkatheter in Vena cava cranialis und linken, lateralen Ventrikel eingesetzt wurden. Die Experimente begannen zwei Tage nach der Implantation. Jeweils 5 Minuten, unmittelbar vor (Zeit 0) und 5, 10, 20, 30, 45, 60 Minuten nach i.c.v. Injektion (über 3 Minuten) der Testsubstanz bzw. von 0,9 %iger NaCl-Lösung (40 µl; Kontrolltiere) wurden Blutproben genommen, sowie im Anschluß daran — um extrazellulärem Volumenverlust entgegenzuwirken — 0,7 ml heparinisierte, physiologische Kochsalzlösung appliziert.

Die i.c.v. Verabreichung von ß-Endorphin (0,5; 2; 5 und 25 µg) führt zu enormem, rapid einsetzendem Plasma-Prolactinanstieg, der nach Überschreiten eines Maximum nur langsamem Absinken Platz macht, wobei die 0,5 µg-Dosis bereits 10 Minuten p.i. ihren Gipfelpunkt, rund siebenfache Steigerung des Basalwerts, erzielt, und 2,0 bzw. 5,0 µg, bei ebenso steilem Anwachsen des Prolactinspiegels nach 20 Minuten ihre Spitze, 20- bis 30-fache Anhebung der Prolactinkonzentration, aufzeichnen (Abb. 11). Injektion

von 25 µg läßt, verglichen mit Kontrolldaten, eine 60mal höhere Hormonmenge in der Zirkulation erscheinen, die eine Stunde p.i. noch keine abfallende Tendenz zeigt (DUPONT et al., 1977b; 1979; 1980).
Um abschätzen zu können, inwieweit Naloxon in der Lage ist, den durch 5 µg ß-Endorphin induzierten Prolactin-Surge zu blockieren, wurde der Opiatantagonist in verschiedenen Dosen (0,1; 0,5; 2,5 und 12,5 mg/kg) jeweils 10 Minuten vor ß-Endorphin verabfolgt. Lediglich die höchste Dosis (12,2 mg/kg) war imstande, eine komplette Hemmwirkung zu demonstrieren (DUPONT et al., 1979; 1980).

Nachdem Met-Enkephalin, das N-terminale Pentapeptid von ß-Endorphin, bei Ratten nach s.c. Applikation (10 mg/kg) keinen (Shaar et al., 1977), nach i.p. Gabe (5 mg/kg) einen nur dem Trend nach vorhandenen Effekt (BRUNI et al., 1977) auf den Prolactinspiegel demonstriert, erweist es sich selbst nach i.c.v. Verabreichung als relativ schwach und kurzfristig wirksam im Gegensatz zu dem rund 2000mal potenteren ß-Endorphin. Bei einer effektiven Minimaldosis von 400 µg kommen 500 bzw. 1000 µg maximal an eine 4- bzw. 6-fache Erhöhung des Serum-Prolactin 10-20 Minuten p.i. heran, wobei 1000 µg gerade die Wirkung von 0,5 µg ß-Endorphin nachvollziehen können, jedoch viel schneller die Rückkehr zum Ausgangsniveau einleiten (DUPONT et al., 1977b; 1979; 1980;CHIHARA et al., 1978).

Abbildung 11 zeigt den Prolactin-Kurvenverlauf nach i.c.v. Applikation von 5 µg ß-Endorphin im Vergleich zu 1000 µg Met-Enkephalin.

Umgekehrt deuten Bindungsstudien — bei 0°C durchgeführt, um enzymatische Aktivität weitgehend auszuschalten — grundsätzlich höhere Affinität des Pentapeptids zu Opiatrezeptoren im Vergleich zu ß-Endorphin an (DUPONT et al., 1977a; 1979; 1980).

Positive Resultate nach s.c. Anwendung von Met- bzw. Leu-Enkephalinanalogen, bei denen Glycin in Position 2 durch D-Alanin substituiert wurde, lassen vermuten, daß ein geringes oder ausbleibendes Echo nativer Enkephaline lediglich deren schneller, enzymatischer Zerstörung durch Aufspaltung der Tyr^1-Gly^2-Bindung anzulasten ist (SHAAR et al., 1977; FREDERICKSON, 1977; CRAVISO et al., 1978; KING et al., 1979; DELLA BELLA et al., 1979; DUPONT et al., 1979; 1980; CARENZI et al., 1980; RAPOPORT et al., 1980).

Die größere Potenz von ß-Endorphin, verglichen mit den Enkephalinen, müßte demnach auf dessen höhere Resistenz gegenüber Degradierung zurückzuführen sein (CUSAN et al., 1977; DUPONT et al., 1979; 1980). ß-Endorphin und sein $[D\text{-}Ala^2]$-Analoge unterscheiden sich bezüglich ihres Effektes auf den Plasma-Prolactinspiegel nach i.c.v. Gabe nur unwesentlich, wohingegen $[D\text{-}Ala^2]$-ß-Endorphin bei i.v. Verabfolgung dem nativen Molekül an Wirkungsdauer deutlich überlegen ist (LABRIE et al., 1977; CUSAN

et al., 1977; LEMAIRE et al., 1978b; DUPONT et al., 1979; 1980).

[D-Ala^2] -Met-Enkephalin erreicht nach i.c.v. Applikation die Wirksamkeit von ß-Endorphin, während sich [D-Ala^2] -Met-Enkephalinamid gar 5000 mal effektiver als das native Pentapeptid vorstellt. So genügen zur Registrierung maximaler Prolactinstimulation schon 300 µg [D-Ala^2] -Met-Enkephalin bzw. nur 62,5 µg [D-Ala^2] -Met-Enkepha-

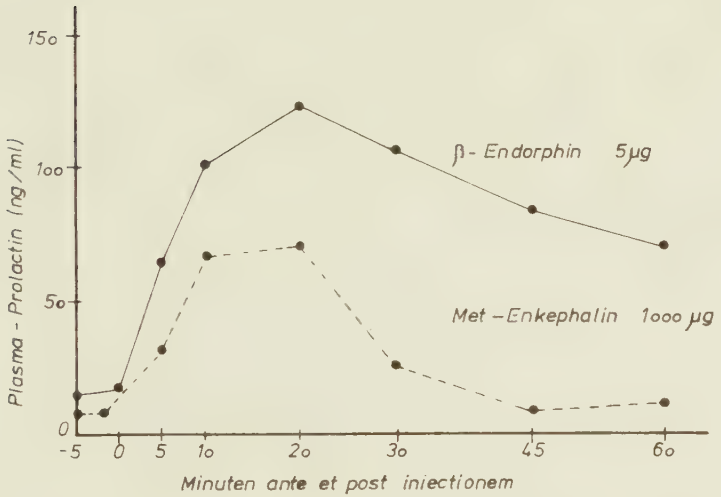


Abb. 11: Verlauf der Plasma-Prolactinkurven männlicher Ratten (n = 8-10) nach i.c.v. Applikation (Zeit 0) von 5 µg ß-Endorphin im Vergleich zu 1000 µg Methionin-Enkephalin. (nach DUPONT et al., 1977b; 1979; 1980)

linamid (CUSAN et al., 1977; CHIHARA et al., 1978). Allein die Anfügung einer Äthylamidgruppe an das COOH-Ende von Met-Enkephalin vermag bereits, dessen Aktivität deutlich zu steigern (CUSAN et al., 1977). Dagegen bleibt jegliche Prolactinreaktion auf Verabreichung von [D-Tyr^1]-Met-Enkephalin und N-acetyl-Met-Enkephalin aus, was die Notwendigkeit von L-Tyrosin für die Entfaltung biologischer Aktivität betont (Vgl. Abb. 2b) (CUSAN et al., 1977).

Zahlreiche Versuche, in denen diverse Opiateigenschaften als Maß für die Effektivität zu testender Opioide herangezogen wurden, lieferten schließlich Beweise dafür, daß Enkephaline in der Tat einer extrem raschen Inaktivierung unterliegen. Besonders Plasma und Hirngewebe enthalten hohe Konzentrationen hydrolytisch wirksamer Enzyme, welche mit Angriff auf Tyr^1-Gly^2 den ersten Schritt zum Abbau der Pentapeptide vollziehen. So läßt sich schon 15 Sekunden nach i.v. Injektion von [^{3}H]-Met-Enkephalin nur noch 5% intaktes Peptid messen.
Entsprechend resultiert bei in-vitro-Experimenten an Meerschweinchenileum oder Maus-Vas deferens aus der Addition verschiedener Peptidaseinhibitoren zum Organbad eine Potenzierung des hemmenden Enkephalineffektes auf elektrisch induzierte Kontraktionen dieser Präparate. Verabfolgung von Carboxypeptidase-A-Hemmern (d-Phenylalanin; ß-Phenyl-

propionat) an Mäuse führt zu einer Verstärkung und Verlängerung der analgetischen Wirkung exogenen Met-Enkephalins, wie endogen freigesetzter Opioidpeptide (HAMBROOK et al., 1976; DUPONT et al., 1977a; CRAVISO et al., 1978; GRÄF, 1978; DELLA BELLA et al., 1979; GORENSTEIN et al., 1979; CARENZI et al., 1980; PATEY et al., 1980).

Ebenfalls im Rahmen von Prolactinspiegelverlaufskontrollen konnten MARTIN et al. (1979) an männlichen Ratten keine meßbare Einflußnahme von Naloxon auf die Plasma-Prolactinkonzentration feststellen (Vgl. Tabelle 3). Sie hatten die Tiere mit Jugularis-Dauerkanülen versehen, über die 6 Stunden lang (10.00 - 16.00 Uhr) in 15-minütigen Abständen Blutproben für die Prolactinanalyse entnommen wurden. Die Naloxonapplikation (0,4; 10; oder 20 mg/kg) erfolgte i.v. auf zweimal, um 10.15 und 12.30 Uhr. Kontrolltiere bekamen entsprechend 0,9 %ige NaCl-Lösung. Um Blutvolumen- und Hämatokritänderungen in möglichst engen Schranken zu halten, wurden die Erythrozyten jeder Probe in steriler, physiologischer NaCl-Lösung resuspendiert und reinjiziert. Die Prolactinwerte waren bei Kontroll- wie Versuchstieren niedrig ($<$ 10 ng/ml) und häufig nicht zu erfassen ($<$ 1 ng/ml). Auch die reaktive Prolactinerhöhung auf milden Stress ("handling for 3 min") zeigte sich unbeeinflußt durch vorherige Naloxongabe.

Die von anderen Autoren gefundene Prolactinstimulation durch Opioide führt MARTIN (MARTIN et al., 1979), angesichts der epileptogenen Effekte dieser Substanzen, auf die Induktion abnormer, elektrischer Ereignisse im Gehirn zurück. Da sich außerdem in seinen Versuchen kein Naloxoneffekt auf Prolactin herauskristallisiert, glaubt er seine Ansicht bekräftigt, endogene Opiate seien unter physiologischen Bedingungen nicht in die Kontrolle der Prolactinfreisetzung verwickelt; vielmehr könne diesen Stoffen ein modulierendes Eingreifen im Gefolge von Störungen der neuroendokrinen Achse zukommen.

Im Gegensatz zu den negativen Resultaten von MARTIN (MARTIN et al., 1979;), gelingt es KOENIG et al. (1979), die beschriebene Depression des Prolactinbasalspiegels nach Naloxonapplikation durch ähnliche Experimente — ebenfalls an männlichen Ratten — nachzuvollziehen.
Ein Vergleich der Versuchsbedingungen beider Arbeitsgruppen läßt die Möglichkeit einer darin begründeten Ursache für die abweichenden Ergebnisse gering erscheinen (Tabelle 3).
Nachdem hohe Naloxondosen ($\geqslant$ 1 mg/kg) bereits unwirksam oder zumindest nicht effektiver als geringe Dosen (0,2 mg/kg) befunden worden waren (SHAAR et al., 1977; BRUNI et al., 1977), überrascht das negative Ergebnis hier nicht so sehr, wie der ausbleibende Effekt nach 2 x 0,2 mg/kg.

Tabelle 3: Vergleich von Versuchsbedingungen und Resultaten zweier Arbeitsgruppen bei der Prüfung des Naloxoneinflusses auf den basalen Plasma-Prolactinspiegel männlicher Ratten

	MARTIN et al. (1979)			KOENIG et al. (1979)	
Versuchstiere	Ratten ♂ (Charles River)			Ratten ♂ (Sprague Dawley)	
Stärke der Versuchs- (bzw. Kontroll-) gruppe	keine Angaben			7 (7)	
Blutentnahme Art	Jugularisdauerkanülen			implantierte Atrialkanülen	
Häufigkeit	über 6 h alle 15' (Beginn 15' vor der 1. Naloxoninjektion)			0* , 10, 30, 60 Minuten p.i.	
Menge/Probe	keine Angaben			0,7 ml	
Volumenersatz/Probe	Erythrozyten in steriler phys. NaCl-Lsg. resuspendiert und reinjiziert			phys. NaCl-Lsg. (0,7 ml)	
Prolactinbestimmung	RIA (NIAMDD)			RIA (NIAMDD)	
Prolactinbasal- und Kontrollwerte (ng/ml)	< 10 bis < 1			10 - 20	
Naloxonappl. art	i.v. auf 2x im Abstand von 135'			i.p.	
getestete Naloxondosen (mg/kg)	0,4	10	20	0,06	0,6
Naloxoneffekt auf den basalen Prolactinspiegel **	0	0	0	0	↓

* 0 = Zeit unmittelbar vor Naloxoninjektion

** 0 = ohne Effekt; ↓ sign. Abfall ($p < 0,05$)

Daß 0,06 mg/kg Naloxon noch keine signifikante Änderung des basalen Plasma-Hormongehalts bringen, bestätigen frühere Untersuchungen (SHAAR et al., 1977).
Auffällig sind die durchwegs sehr niedrigen Prolactinbasalspiegel bei MARTIN, zumal man angesichts der häufigen Blutentnahmen, und der folglich gegebenen Aufregung für die Tiere, höhere, stressreaktive Prolactinkonzentrationen erwarten könnte. Demnach wäre es denkbar, daß naloxoninduzierte Verminderung der Prolactinausschüttung nicht mehr registrierbar war.
Obwohl keine sicheren Anhaltspunkte für eine genetische Beeinflussung von basalem Prolactinspiegel oder Prolactinreaktion nach Naloxon gegeben sind, sei doch an dieser Stelle auf die Beobachtung aufmerksam gemacht, daß die überwiegende Anzahl der Untersucher mit Sprague Dawley-, MARTIN dagegen mit Charles River-Ratten arbeitet. Ganz abwegig erscheint die Möglichkeit einer dahingehenden Interpretation der unterschiedlichen Plasma-Prolactinwerte nicht, wenn man an die — allerdings im Zusammenhang mit Saugen als adäquatem Stimulus für die physiologische Prolactinausschüttung — von NICOLL (1972) aufgestellte Hypothese denkt, wonach die Hypophyse mindestens drei "pools" für Prolactin besitzt: einen schnell und leicht, einen nur verzögert entleerbaren und einen prinzipiell zurückgehaltenen. Sowohl im Gesamtprolactingehalt der Hypophyse, als auch im jeweiligen Anteil der drei Speicherfraktionen sieht NICOLL eine genetisch verankerte Ur-

sache für variierendes Ausmaß, wie abweichende Dauer einer Prolactinantwort auf Saugen.
Darüberhinaus mag die Effektivität von Opioidagonist- oder -antagonist-Rezeptor-Interaktionen, zumindest im Hinblick auf einige Opiatwirkungen, gewissen, vom Genotyp geprägten Abstufungen unterliegen. So demonstrieren Untersuchungen an verschiedenen Mäusestämmen (C 57; DBA) graduell unterschiedliche, analgetische, wie die lokomotorische Aktivität beeinflussende Wirksamkeit von Morphin und Met-Enkephalin. Außerdem zeigt sich in-vitro eine genetisch differenzierte Reaktion elektrisch induzierter Kontraktionen von Maus-Vas deferens-Präparationen auf Opioidapplikation (BERTI et al., 1978).

2.2.2. Versuche an der Ziege

Eine der wenigen Ausnahmen, wo von Ratten abgegangen wurde, stellen die Untersuchungen von HART dar (HART et al., 1978), der die Auswirkungen von Morphin, Naloxon und des Met-Enkephalinanalogen ICI 118736 (Tyr-D-Ser-Gly-Phe-Met-OMe) auf die Serumprolactinkonzentration kastrierter Ziegen testete. Die Blutproben zur Prolactinbestimmung (RIA) wurden über Vena-Jugulariskatheter in 15-minütigen Intervallen von 7 Stunden vor bis 7 Stunden nach der jeweiligen Injektion gewonnen.

Intravenöse Applikation von Morphin (10 mg/Ziege $\triangleq$ ca. 1,2 mg/kg) produziert eine ca. siebenfache Erhöhung des Prolactinspiegels, der sich nach etwa 40 Minuten wieder auf Basalniveau (ca. 9 ng/ml) einstellt. Bei leicht verzögerter Reaktion ergibt subcutane Injektion ein ähnliches Resultat.

Auch der Enkephalinanaloge ICI 118736, der in verschiedenen Dosen (0,5; 1,0; 2,0; 4,0 mg/Ziege i.v.) geprüft wurde, führt in allen Fällen zu einem signifikanten Anwachsen des Serum-Prolactingehalts. Am Rande sei erwähnt, daß parallel zum Prolactinanstieg nach Verabfolgung beider Drogen ein Abfall des Plasma-Insulins zu registrieren war, der über 3 Stunden anhielt.

Naloxon (1,2 mg/Ziege), 10 Minuten vor Morphin i.v. verabfolgt, egalisiert dessen Wirkung ($p < 0,001$). Allein i.v. oder s.c. gegeben, senkt der Opiatantagonist die

basale Prolactinkonzentration deutlich ($p < 0,05$), bei über 7 Stunden anhaltendem Effekt.

2.2.3. Versuche an Primaten

Die bisher an Primaten im Hinblick auf eine mögliche Opioid-Prolactininteraktion vorgenommenen Pilotversuche zeigen recht widersprüchliche Ergebnisse.
Bei sieben Männern und einer Frau, die sich an 2 Testtagen — morgens nüchtern — für eine Verlaufskontrolle des Prolactinblutspiegels (Blutentnahme in 15- bzw. 30-minütigen Abständen) — einmal nach intravenöser Applikation von 10 mg Naloxon — zur Verfügung stellten, verhält sich Prolactin völlig neutral gegenüber dem Opiatantagonisten (Abb. 12) (MORLEY et al., 1980).
Im Gegensatz dazu reagieren vier männliche Affen (Macaca arctoides), die ebenfalls zur Vermeidung von Hyperglykämie über Nacht gefastet hatten, auf Naloxon mit signifikantem, 45 Minuten post iniectionem die Peakdepression erreichendem, anhaltendem Serum-Prolactinabfall. Dabei weichen die nach 0,05, 0,25 und 1,0 mg/kg Naloxon (i.v.) erhaltenen Kurven kaum voneinander ab.
Um Stresseinflüsse möglichst auszuschalten, waren die einzeln eingestallten Tiere vor Experimentbeginn 2 Monate lang täglich an Versuchskäfige gewöhnt worden.

Die Blutentnahme (60, 30, 15 Minuten und unmittelbar vor Naloxonapplikation, wie 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten danach) erfolgte über Dauervenenkatheter (V. saphena), die so angebracht wurden, daß ohne Öffnung des Käfigs hantiert werden konnte (GOLD et al., 1979).

Abbildung 12 stellt die bei Mensch und Affe nach intravenöser Naloxongabe ermittelten Prolactinkurven vergleichend dar.

Entsprechend erzeugt Morphin (i.v.) bei Macaca arctoides in einer Dosierung von 0,4 mg/kg — unwirksam bei 0,04 und 0,1 mg/kg— rund 4-fachen Prolactinanstieg 30-60 Minuten post iniectionem, der bei Vorbehandlung mit 0,25 mg/kg Naloxon, eine Viertelstunde vor Morphin, völlig blockiert wird (GOLD et al., 1979).

Sowohl i.v. Injektion von Morphin (10 mg), als auch i.v. (1; 5; 10 mg) oder i.c.v. (0,1; 0,2; 1,6; 7,5 mg) Applikation von ß-Endorphin in verschiedenen Dosen zieht beim Menschen rasche, innerhalb von 5 Minuten registrierbare Plasma-Prolactinanhebung nach sich, wobei sich das Einpendeln auf Basalwerte nach Morphin über 4, nach ß-Endorphin über 2 Stunden erstreckt (FOLEY et al., 1979).

Bei Pavianen zeichnet ein Enkephalinanaloge ([2-D-Ala^5, 5-Norleu]-Enkephalinamid), i.v. verabfolgt,eine ähnliche Plasma-Prolactinkurve (FOLEY et al., 1979).

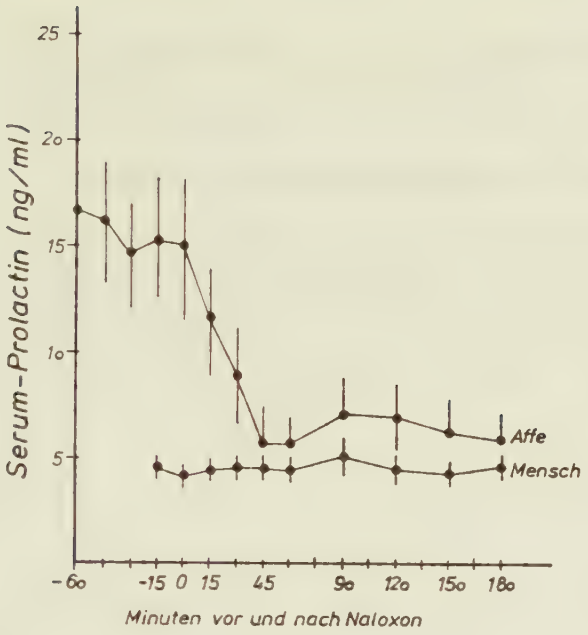


Abb. 12: Vergleichende Darstellung des Prolactinblutspiegelverlaufs nach intravenöser Applikation von Naloxon bei Mensch (10 mg ≙ ca. 0,15 mg/kg) und Affe (0,05 - 1,0 mg/kg). (nach Angaben von GOLD et al., 1979 und MORLEY et al., 1980)

3. WIRKUNGSORT UND WIRKUNGSMECHANISMUS ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER GONADOTROPINKONTROLLE

3.1. PRÜFUNG EINER DIREKTEN EINWIRKUNG AUF DIE HYPOPHYSE

Die Suche nach dem Wirkungsort, von dem aus endogene Opiate ihre Effekte auf die Gonadotropinsekretion ausüben, ergab sich simultan mit der Beobachtung, daß diese Substanzen den LH-Spiegel beeinflussen. Nur die Kenntnis des Angriffspunktes würde dann Aufklärung über den Wirkungsmechanismus versprechen können.

Nachdem bereits die überwiegende Mehrzahl der Untersucher die Vermutung geäußert hatte, daß endogene Opiate — trotz ihrer hohen Konzentration in der Hypophyse — ihre Wirkung auf die Gonadotropinsekretion von hypothalamischer und/oder höherer Ebene aus entfalten, unternahmen CICERO et al. (1979; 1980) in-vitro-Versuche, um die Wahrscheinlichkeit einer Opioidwirkung auf hypophysärem Level abzuklären.

Dem Inkubationsmedium von Hypophysenvorderlappen männlicher Ratten fügten sie LHRH (1×10^{-8} M), Naloxon (1×10^{-5} M) oder beide Substanzen zu und ermittelten nach dreistündiger Inkubationsdauer den LH-Gehalt (RIA). LHRH produziert einen sechsfachen LH-Anstieg im Medium gegenüber dem LH-Basalwert, während Naloxon weder einen Einfluß auf die basale, noch auf die LHRH-stimulierte LH-Freisetzung zeigt.

Nun war auch die Möglichkeit einer Opioid-Testosteron-Interaktion auf Hypophysenebene in Betracht zu ziehen. Dazu wurden dem Hypophysenvorderlappen-Inkubationsmedium LHRH (3×10^{-9} M) allein, LHRH und Dihydrotestosteron (3×10^{-5} M) oder LHRH und DHT und Naloxon (1×10^{-5} M) zugegeben. Die durch Dihydrotestosteron auf die LHRH-stimulierte LH-Sekretion der Hypophyseninkubate ausgeübte Hemmung ($>$ 40 %) wird durch Naloxon nicht beeinflußt (CICERO et al., 1979; 1980).

In die gleiche Richtung weisen in-vivo-Versuche an kastrierten, männlichen Ratten, bei denen gezeigt werden konnte, daß Applikation von LHRH die morphininduzierte Hemmung des sich nach Kastration einstellenden LH-Anstiegs völlig überwinden kann (CICERO, 1980). Auch hier liegt der Schluß nahe, daß durch exogenes LHRH die Stufe, auf der der Morphinblock erfolgt, übersprungen wird, d.h.,daß der eigentliche Vorgang der LH-Freisetzung durch Opiate nicht "angetastet" wird.
Noch einen Schritt weiter läßt die Beobachtung gehen, daß durch elektrische Stimulation der Eminentia mediana bei weiblichen Ratten die antiovulatorische Morphinwirkung ebenso gut aufzuheben ist (SAWYER, 1963), wie durch Applikation des Opiatantagonisten Naloxon, da sich hiermit eine Opioideinflußnahme auf die LHRH-Sekretion als wesentlich wahrscheinlicher, denn ein Effekt auf die LHRH-Synthese erweist (PACKMAN et al., 1976;

ZIMMERMANN et al., 1976; PANG et al., 1977; MURAKI et al., 1977b).

Zweifel daran, daß ein Ausschluß opioiderger Aktion auf Hypophysenebene hinsichtlich der Gonadotropinsteuerung gerechtfertigt ist, bringen jedoch immunohistochemische Untersuchungen des Hypothalamus-Hypophysenkomplexes männlicher und weiblicher Meerschweinchen auf. Während sich bei diesen Studien keine Enkephalinimmunoreaktivität in LHRH-Terminalien nachweisen läßt, demonstrieren der Eminentia mediana benachbarte, hypophysäre Gonadotrope auf Anti-Leucin-Enkephalin-Antiserum sehr intensive, auf Antiserum gegen Methionin-Enkephalin etwas schwächere Zytoplasmaanfärbung (TRAMU et al., 1979). Diese Entdekkung gibt zu der Vermutung Anlaß, daß Enkephaline eventuell die Membran Glykoprotein synthetisierender Zellen passieren und, in deren Zytoplasma gebunden, auf irgendeine Weise modulierenden Effekt auf Gonadotrope entwickeln könnten. Dabei scheinen sie — soweit mit lichtmikroskopischen Methoden beurteilbar — in ihrer intrazytoplasmatischen Lokalisation unabhängig von den Glykoproteinen zu sein, so daß offensichtlich keine direkte Beeinflussung der Sekretgranula statthat.
Im Gegensatz zu den Resultaten bei Meerschweinchen, gelingt es bei weiblichen Ratten nicht, enkephalinimmunoreaktive Substanzen in Gonadotropen darzustellen (TRAMU et al., 1978).

Ungeachtet dieser Ergebnisse konzentrierte man sich in der Folge mehr auf Experimente, die den Beweis für opioiderges Eingreifen von höherer Ebene aus in die Kontrolle hypophysärer Hormonfreisetzung liefern sollten.

3.2. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN ZUR GONADOTROPINSTEUERUNG

An dieser Stelle seien zunächst einige einleitende Bemerkungen zu den an der Gonadotropinsteuerung beteiligten Systemen angefügt.

Zahllose experimentelle Untersuchungen (u.a. nach Deafferentation des mediobasalen Hypothalamus, gezielter elektrischer Stimulation oder Läsion bestimmter Abschnitte) gaben Anlaß zur Aufstellung der sogenannten "Dual Control Hypothesis", wonach vor allem der mediobasale Hypothalamus ("hypophysiotrope Region") als der Ort angesehen wird, der — relativ autonom — für die Mechanismen zuständig ist, die die basale Gonadotropinfreisetzung lenken, also das negative Feedbacksystem der Östrogene im wesentlichen beherbergt. Allerdings scheinen sich gewisse, negative Rückkopplungsaktionen seitens der Gonadensteroide auch in der preoptischen Region abzuspielen. Im Gegensatz dazu vermutet man die Schaltzentrale für die zyklische Gonadotropinfreisetzung, und damit die Lokalisation des positiven Östrogen-Feedback, vornehmlich im Bereich der Areae preoptica, suprachiasmatica et anterior hypothalami, wie der ventralen Septumregion, die über intensive Verbindungen besonders zum Limbischen System verfügen, wo ebenfalls spezifische Östrogenbindungsstellen nachgewiesen sind. Dies gab Anlaß, vor allem Amygdala und Hippocampus als zusätzliche, für den positiven Östrogen-Feedback unmittelbar verantwortliche Regionen in Betracht zu ziehen.

Daneben schreibt man den Östrogen-, wie auch den LHRH-Rezeptoren im Limbischen System eine Bedeutung für die Steuerung des Verhaltens zu.

Bezüglich Herkunft und Verteilung von LHRH bzw. Lokalisation und Zuordnung der LHRH-enthaltenden Neurone (Abb. 13) in Hypothalamus und extrahypothalamischen Hirnregionen, stehen zwar noch einige Fragen offen — Widersprüche ergeben sich möglicherweise auch aus spezies- und vor allem geschlechtsspezifischen Variationen— , doch kann man insgesamt von folgendem Bild ausgehen:

Zahlreiche LHRH-Terminalien, die dem Tractus tuberoinfundibularis entstammen, finden sich in der Eminentia mediana, und lassen sich zu Zellkörpern im Bereich des mediobasalen Hypothalamus (Nucleus arcuatus, Regio premamillaria, Nucleus ventromedialis, Regio retrochiasmatica, Areae anterior et periventricularis) zurückverfolgen. Andererseits wurden in der Regio retromamillaria, in der medialen Area preoptica, der Area suprachiasmatica-preoptica, wie der ventralen Septumregion LHRH-enthaltende Perikaryen nachgewiesen, deren lange Axone sich ebenfalls großteils in die Eminentia mediana erstrecken. Einige davon ziehen offenbar auch zum Organum vasculosum der Lamina terminalis, wo zwar hoher LHRH-Gehalt, jedoch Zellkörper nicht eindeutig auszumachen sind (PALKOVITS et al., 1974; BARRY, 1976; HÖKFELT et al., 1979; WENGER et al., 1980; CARILLO, 1980; CARILLO et al., 1980).

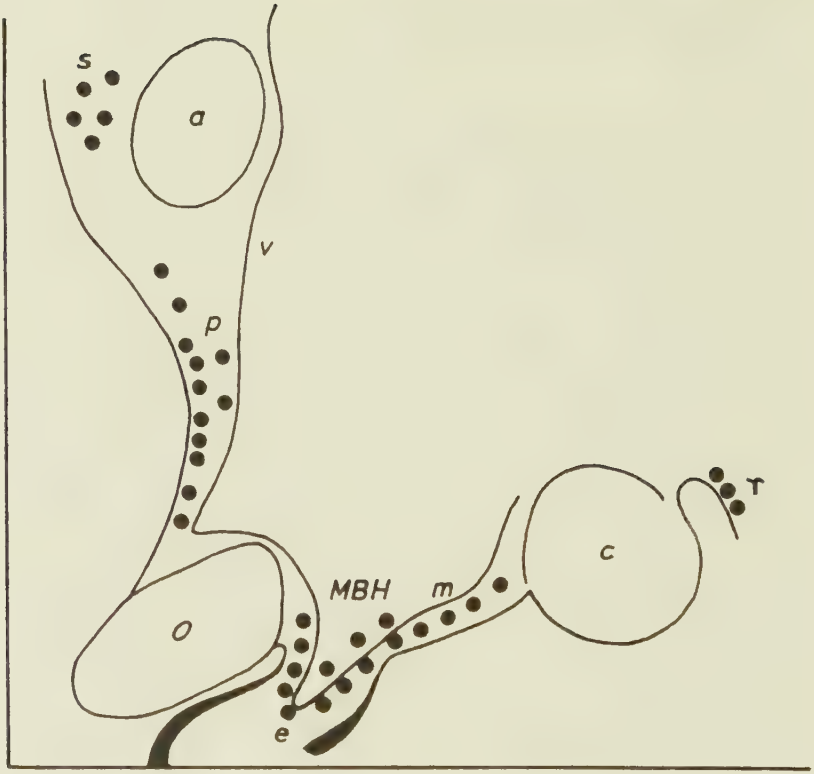


Abb. 13: Auf Immunofluoreszenzmikroskopie basierende, schematisch-topographische Darstellung der LHRH-Perikaryen (schwarze Punkte) im menschlichen Gehirn (nach BARRY, 1976).

a: Commissura anterior; c: Corpus mamillare;
e: Eminentia mediana; m: Regio premamillaria
o: Chiasma opticum; p: Area preoptica;
r: Regio retromamillaria; s: Ventrale Septumregion;
v: Organum vasculosum der Lamina terminalis;
MBH: mediobasaler Hypothalamus

Von Nervenendigungen freigesetztes LHRH gelangt — eventuell unter Mitwirkung der Tanyzyten, modifizierter Ependymzellen im Bereich der Eminentia mediana — in das Hypophysenpfortadersystem und wird an spezifische Membranrezeptoren basophiler Zellen im Hypophysenvorderlappen gebunden. Über rezeptorvermittelte Adenylatzyklase-Aktivierung einerseits, und Stimulation einer ribosomalen Proteinkinase andererseits, wird eine Kettenreaktion in der Zelle in Gang gesetzt, die zu vermehrter Ausschleusung und gesteigerter Neusynthese von LH und FSH führt.
Bei den für die LHRH-Wirkung verantwortlichen Rezeptoren lassen sich zwei Typen unterscheiden: Populationen mit hoher Affinität, aber geringer Kapazität, und solche mit geringer Affinität bei hoher Kapazität.
Diese Tatsache gab Anlaß, darin eine der möglichen Erklärungen für die unterschiedliche Freisetzungsrate von LH und FSH durch LHRH zu suchen. Weitere, denkbare Ursachen für die differenzierte Stimulation der beiden Gonadotropine liegen etwa im modulierenden Einfluß des jeweiligen Steroidenvironment, in der Existenz eines FSH-spezifischen Hemmfaktors (Inhibin), in regulierendem Eingreifen von Prostaglandinen, in einer variablen Reaktion der gonadotropinsezernierenden Hypophysenzellen — unter anderem in Abhängigkeit von LHRH-Konzentration und -Einwirkungsdauer ("Priming-Effekt") — und in der, verglichen mit LH, längeren Halbwertszeit von FSH, die zumindest zu dem verschiedenen, zeitlichen Verlaufsmuster der Gonadotropin-Blutspiegel

beitragen kann. Gewisse Bedeutung wird in diesem Zusammenhang auch der Beobachtung zugemessen, Gonadotropine beeinflußten ihre eigene Sekretion durch Rückwirkung auf Hypothalamus oder Hypophyse ("Short-Loop-Feedback"), was ähnlich von LHRH angenommen wird ("Ultrashort-Loop-Feedback").

Der pulsartige Rhythmus der LH- und FSH-Freisetzung ("episodic release"), der unter physiologischen Bedingungen durch das Auftreten von Amplituden in je zwei- bis dreistündigen Abständen charakterisiert ist, wird ursächlich einer entsprechend erfolgenden LHRH-Entladung zugeschrieben. (Bei männlichen Tieren setzt sich dieses Phänomen in einer ebenfalls wellenartigen Testosteronausschüttung fort). Das Diktat wird insofern nicht ganz "korrekt eingehalten", als offensichtlich geringe Gonadotropinmengen zur Aufrechterhaltung einer stabilen Basis diesem Sekretionstakt nicht unterliegen (SCHALLY, 1978; HUTCHINSON, 1978; EVERETT, 1978; JEFFCOATE, 1978; LINCOLN, 1978; SHARP et al., 1978; KRIEGER et al., 1979; REDDY et al., 1980; BEX et al., 1981).

Weit entfernt von der endgültigen Klärung, welche Neurotransmitter an der Steuerung der LHRH-Freisetzung Anteil nehmen, hat man sich heute in etwa folgendes, z.T. arbeitshypothetisches Bild gemacht:

Die Aufrechterhaltung des "central excitatory state" der LHRH-Neurone scheint in jedem Fall noradrenergen Tonus zu erfordern, wobei vermutlich axo-axonale Synapsen an den

LHRH-Nervenendigungen in der Eminentia mediana oder axodendritische an den LHRH-Perikaryen des Nucleus arcuatus für die basale — also auch für die bei kastrierten Tieren erhöhte — LHRH-Freisetzung wesentlich sein mögen. Noradrenerge Axonkollateralen halten offenbar auch die "Strecke" der zyklischen LHRH-Entladung beim weiblichen Tier im Bereich der Areae preoptica et anterior hypothalami "einsatzbereit", indem der Noradrenalin-Turnover zur Zeit des negativen Östrogen-Feedback über presynaptische Inhibition niedrig gehalten, zur Stunde des positiven Östrogen-Rückkopplungseffektes "entfesselt" wird.
Weiter stellt man sich vor, daß Entladung cholinerger Neurone im Bereich des Nucleus arcuatus, die in synaptischer Verbindung mit den tuberoinfundibulären, dopaminergen Neuronen stehen, zur Dopaminausschüttung führt. Die dopaminergen Terminalien wiederum haben axo-axonalen Kontakt mit den LHRH-Neuronen in der Eminentia mediana. Dopamin bewirkt Depolarisation und damit Freisetzung von LHRH, deren Grad — und folglich die Empfindlichkeit der LHRH-Neurone gegenüber Dopamin — vom aktuellen Steroidenvironment abhängig ist. Auf der Stufe der catecholaminergen Kontrolle der LHRH-Ausschüttung wird zudem Prostaglandinen (PGE) eine Mittlerrolle zugeschrieben.
Serotonin wird teilweise eine LHRH-hemmende Funktion zugedacht, wobei unklar ist, inwieweit diese unter Ruhebedingungen Ausprägung erfährt. Möglicherweise ist serotoninerger Tonus — östrogenabhängig — im Zusammenhang mit

der preovulatorischen LH-Freisetzung jedoch vonnöten (vgl. Tabelle 20).

Während Histamineffekte (+) eher pharmakologischer Natur zu sein scheinen, stellt γ-Aminobuttersäure (GABA) vermutlich einen spezifischen Faktor dar, ohne daß bisher sichere Anhaltspunkte einer tonischen GABA-Beteiligung an der LHRH-Regulation gegeben wären. Allerdings wird von einigen Autoren für GABA eine Rolle als Überträgerstoff presynaptisch den Noradrenalintonus inhibierender Interneurone postuliert, womit sie das Werkzeug östrogenrezeptiver Zellen darstellen soll. Diese Hypothese wird von der Beobachtung abgeleitet, daß sich der GABA-Umsatz in di- und proöstrischen Tieren jeweils reziprok zum Noradrenalin-Turnover verhält (Vgl. Tabelle 20).

Verschiedene, erst vor kurzem im Gehirn — und speziell im Hypothalamus — entdeckte Peptide nehmen ebenfalls Einfluß auf die Gonadotropinsekretion. So hemmen Somatostatin, Cholezystokinin, Gastrin, Arginin-Vasotocin und Neurotensin die LH-Freisetzung unter bestimmten Bedingungen, während VIP (vasoaktives Intestinalpeptid) und Substanz P stimulierend wirken. Obwohl eine physiologische Bewandtnis dieser Stoffe in Verknüpfung mit der Gonadotropinsteuerung kaum bestritten wird, ist diese augenblicklich völlig im Dunkeln. Das gilt ebenso für Melatonin (-), Glutaminsäure (+), Lysin (+) und ß-Alanin (+) (ROTSZTEJN et al., 1976; 1977; WEINER et al., 1978; SHARP et al., 1978; VIJAYAN et al., 1978a, b, c; 1979a, b, c; 1980; SCHALLY, 1978; KORDON et

al., 1979; KRULICH, 1979; McCANN et al., 1979; OJEDA et al., 1979; HÖKFELT et al., 1979; McCANN, 1980; WALKER, 1980; WUTTKE et al., 1980; WUTTKE, 1980; RYU et al., 1980).

3.3. SUCHE NACH EINEM HYPOTHALAMISCHEN UND/ODER ÜBERGEORDNETEN ANGRIFFSPUNKT ENDOGENER OPIATE

Als weitere Stoffgruppe, der mit hoher Wahrscheinlichkeit im Rahmen der Gonadotropinkontrolle eine Neurotransmitter- bzw. Neuromodulatorrolle zuzuerkennen ist, stellten sich schließlich die endogenen Opiate vor. So wurden Anstrengungen unternommen, die den Opioiden zustehenden Knotenpunkte in dem verwirrenden Maschenwerk von Faktoren zu entdecken, die mit der Gonadotropinregulation verknüpft sind.

Um festzustellen, auf welche Weise Methionin-Enkephalin, das bei der Ratte dominierende Opioidpentapeptid, seine hemmende Wirkung auf die Gonadotropinsekretion entfaltet, untersuchten ROTSZTEJN et al. (1978) in vitro den Met-Enkephalineffekt auf die basale und dopamininduzierte LHRH-Freisetzung von inkubierten Fragmenten verschiedener hypothalamischer Strukturen mit hohen Anteilen an LHRH-Nervenendigungen. Sie gewannen die Präparate frisch von männlichen Ratten, die jeweils morgens dekapitiert wurden. Die LHRH-Bestimmung im Inkubationsmedium erfolgte mittels Radioimmunoassay.

Zugabe von Met-Enkephalin (10^{-7} M) und/oder Naloxon (5×10^{-6} M) zeigt bei keiner der untersuchten Strukturen (mediobasaler Hypothalamus mit Eminentia mediana; Organum vasculosum der Lamina terminalis) einen Effekt auf den basalen LHRH-Gehalt im Medium. Dopamin (10^{-7} M) bewirkt

eine signifikante Steigerung der LHRH-Freisetzung von der Eminentia mediana (Palisadenzone), die bei gleichzeitigem Zusatz von Met-Enkephalin (10^{-7} M) verhindert wird. Daß es sich dabei um einen spezifischen Opioidmechanismus handelt, beweist die Tatsache, daß Naloxon (5×10^{-6} M) — simultan mit Dopamin und Met-Enkephalin dem Medium zugesetzt — in der Lage ist, den inhibitorischen Effekt zu unterdrücken. Naloxon allein weist keine Interferenz mit der stimulierenden Wirkung von Dopamin auf. Dagegen entbehrt Dopamin — allein ebenso, wie in Kombination mit Met-Enkephalin und/oder Naloxon — im Organum vasculosum, einer an LHRH-Nervenendigungen reichen Region, in der jedoch keinerlei Dopamininnervation nachzuweisen ist, jeder Wirkung.

Die Ergebnisse lassen schließen, daß im Bereich der Eminentia mediana agierende, endogene Opiate die LHRH-Freisetzung nicht direkt angreifen, sondern eher die Fähigkeit der neurosekretorischen Neurone, auf Dopaminstimulation zu antworten, beeinflussen.

Da einerseits die Dopaminwirkung durch spezielle Dopaminantagonisten (z.B. Haloperidol) verhindert, andererseits der Met-Enkephalineffekt durch Naloxon aufgehoben werden kann, ohne daß durch den Opiatantagonisten eine Modifizierung der Dopaminaktion stattfindet, liegt die Vermutung nahe, daß sich entweder an den LHRH-Nervenendigungen sowohl Dopamin- als auch Opiatrezeptoren, und zwar unabhängig voneinander, befinden (ROTSZTEJN et al., 1976; 1977; 1978),

oder die dopaminergen Terminalien, ähnlich wie im Striatum und anderen Hirnregionen vermutet (Vgl. Abb. 42), enkephalinrezeptive Bindungsstellen aufweisen (BIGGIO et al., 1978a; ARBILLA et al., 1978; SCHWARTZ et al., 1978; SCHWARTZ, 1979; SCHOEMAKER et al., 1980; DUPONT et al., 1980).

Obwohl eine Beteiligung zyklischer Nukleotide an der Vermittlung der Dopaminwirkung in der Eminentia mediana bisher noch nicht nachgewiesen ist, wäre es nach den erzielten Resultaten ebenso denkbar, daß Met-Enkephalin auf postsynaptischer Ebene mit Dopamin interferiert, indem es die dopamininduzierte Adenylatzyklase-Aktivierung blokkiert.

Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß dem Opioideffekt in vivo daneben eine Beeinflussung der Dopamin-Turnoverrate in der Eminentia mediana zugrunde liegt, wie sie in Zusammenhang mit opioidinduzierter Prolactinfreisetzung demonstriert werden konnte (FERLAND et al., 1977; VAN VUGT et al., 1979; 1980; DEYO et al., 1979; GEORGE et al., 1980).

ß-Endorphin, dessen schwerpunktmäßige Verteilung im Gehirn von den bevorzugten Enkephalinregionen abweicht (Vgl. Abb. 5), wurde im Rahmen von in-vivo-Versuchen auf seine Einflußnahme bezüglich der LH-Sekretion getestet, wobei auch hier die Frage nach dem Ort, von dem aus eine solche erfolgt, das Leitmotiv bildete.

So implantierten PARVIZI und ELLENDORFF (1980) Dauerkanülen bilateral in mediobasalen Hypothalamus und Amygdala von sieben erwachsenen, ovariektomierten Miniaturschweinen. Nach zweiwöchiger Erholungs- und Gewöhnungsperiode brachten sie den Tieren Dauerkatheter in die Vena jugularis ein. Mit je dreitägigen Intervallen wurden bei jedem Schwein Mikroinjektionen von ß-Endorphin (30 ng) einmal in den mediobasalen Hypothalamus, einmal in die Amygdala, einmal simultan in beide Gewebe, und an einem 4. Tag von 0,7 %iger Kochsalzlösung (1 µl) ebenfalls in beide Regionen vorgenommen (1. Kontrolle). Die Reihenfolge der vier Behandlungstage war für jedes Tier zufällig gewählt. Blutproben wurden in 10 Minuten-Abständen von 90 Minuten vor (Ermittlung der LH-Ausgangswerte) bis 3 Stunden nach der jeweiligen Injektion, und zusätzlich an einem Tag über die gleiche Zeitspanne ohne Injektion (2. Kontrolle) gewonnen. Die Messung der Plasma-LH-Konzentration erfolgte mittels Radioimmunoassay.

Die Resultate zeigen, daß ß-Endorphin nach Verabreichung in den mediobasalen Hypothalamus keinen Effekt auf LH demonstriert, nach Applikation in die Amygdala jedoch inner-

halb von 60 Minuten zu einem signifikanten LH-Abfall führt, wie er ähnlich — nur etwas ausgeprägter — nach simultaner Verabfolgung in beide Gewebe zu registrieren ist.
Die Autoren interpretieren ihre Ergebnisse dahingehend, daß

- LHRH-sezernierende, mediobasal-hypothalamische Zellen durch ß-Endorphin nicht direkt beeinflußt werden. Gleichwohl erfolge durch das Peptid möglicherweise eine Vorbereitung des Hypothalamus auf eintreffende Signale.
- die zahlreichen Opiatrezeptoren im Hypothalamus an Mechanismen beteiligt zu sein scheinen, die nichts mit der LHRH-Sekretion zu tun haben.
- ß-endorphininduzierte Veränderungen des LH-Spiegels vermutlich über extrahypothalamische Neurone vermittelt werden, die in irgendeiner Form hemmend auf die LHRH-Freisetzung einwirken.
- die Amygdala als eine potentielle Region betrachtet werden müssen, von wo aus ß-Endorphin seinen Einfluß auf die Gonadotropinsekretion entfaltet.

Diese Experimente stellen sicherlich einige interessante Aspekte zur Diskussion, zumal die Amygdala als ein Ort bevorzugter ß-Endorphinakkumulation identifiziert sind. Dabei ist offenbar die Aktion auf die Gonadotropinfreisetzung nur ein Bestandteil eines ausgedehnten Amygdala-ß-Endorphin-Wechselspieles, in das wahrscheinlich eine ganze Reihe von Faktoren einstrahlt. So verkörpern Amygdala einen

Knotenpunkt im Rahmen der Regulation einer Anzahl von Verhaltensmustern, und ß-Endorphin, wie auch LHRH, mag diesbezüglich eine Rolle zufallen.

Es darf jedoch nicht übersehen werden, daß diese Untersuchung an Miniaturschweinen durchgeführt worden ist, und somit eine der wenigen Ausnahmen darstellt, wo von Ratten abgegangen wurde. Darüberhinaus waren die Schweine ovariektomiert, d.h. ihres Steroidenvironments, und dadurch eines wesentlichen LH-Kontrollfaktors weitgehend enthoben. Östrogen- (bzw. progesteron-) abhängige Gonadotropinsteuerungsmechanismen wurden also nicht erfaßt, weshalb ein Ausschluß endorphinerger Einwirkung im Bereich des mediobasalen Hypothalamus auf die LHRH-Sekretion allein auf der Grundlage dieser Experimente nicht gerechtfertigt erscheint.

4. WIRKUNGSORT UND WIRKUNGSMECHANISMUS ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER PROLACTINKONTROLLE

4.1. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN ZUR STEUERUNG DER PROLACTINSEKRETION

Die Prolactinsekretion bei Säugetieren unterliegt primär hemmenden Einflüssen vonseiten des Gehirns, wobei über einen hypothalamischen Prolactin-Inhibiting-Faktor (PIF) durch rezeptorvermittelte Änderung des Membranwiderstandes der laktotropen Hypophysenvorderlappenzellen eine tonische Unterdrückung der Prolactinfreisetzung bewirkt wird. Dieser —vermutlich nicht über Adenylatcyclaseaktivierung ablaufende— Vorgang führt zur Impermeabilität der Zellmembran für Ca^{++}, und so zur Verhinderung der Ausschleusung von Hormongranula. Hohe intrazelluläre PGE_1-Konzentrationen scheinen den Effekt abzuschwächen.

Die Notwendigkeit eines vorwiegend hemmenden Prinzips ist einleuchtend, angesichts der Fähigkeit laktotroper zur spontanen Entwicklung von Aktionspotentialen, die auf offenbar unter Ruhebedingungen hochaktiven Ca^{++}-Membrankanälen basiert, im Gegensatz zu anderen —in Dauerhyperpolarisation verharrenden— tropen Hypophysenvorderlappenzellen, die zur Hormonabgabe ein membrandepolarisierendes Prinzip voraussetzen.

Dennoch existiert vermutlich mehr als ein Prolactin-Releasing-Faktor (PRF), der in der Lage ist, auf bestimmte Reize hin die PIF-Aktion zu überwinden. So wurde die Hypothese entwickelt, es herrschten mindestens zwei verschiedene

Prolactin-Sekretionsmechanismen, von denen der eine — durch mindere Stresseinflüsse oder andere, "unbedeutendere" Stimuli in Gang gesetzt, und durch raschen, aber relativ geringen Plasma-Prolactinanstieg charakterisiert — über PRF ablaufe, der andere dagegen — spezifischen Befehlen gehorchend — seinen Ausdruck in etwas verzögerter, jedoch wesentlich höherer Prolactinausschüttung fände, und auf einer zeitweisen Unterbrechung der PIF-Freisetzung in das hypophysäre Pfortadersystem beruhe (DULAR et al., 1974; OJEDA et al., 1974; DUFY et al., 1979; ENJALBERT et al., 1978; TINDAL, 1978; HARRIS et al., 1978; DEL POZO et al., 1979; HÖKFELT et al., 1979).

Bezüglich der Faktoren, die an der Steuerung der Prolactinausschüttung beteiligt sind, gibt es noch viele Unklarheiten. Sicher sein dürfte jedoch die Führungsposition von Dopamin in der zentral gelenkten Unterdrückung der Prolactinfreisetzung, die sich offenbar in einer hemmenden, aminergen Doppelkontrolle — über Stimulation der PIF-Freisetzung von der Eminentia mediana einerseits, und direkte Aktion auf Hypophysenlevel andererseits — äußert. Obwohl diese Beobachtung vielfach zu der Annahme geführt hat, Dopamin selbst sei PIF, gibt es doch Hinweise auf mindestens einen daneben existierenden, dopaminabhängigen Peptid-PIF.

Der hypophysäre Dopamin-Wirkungsmechanismus scheint von dem in verschiedenen zentralen Neuronennetzen beschriebenen erheblich abzuweichen. Demnach muß zumindest mit der

Existenz zweier Klassen von Dopaminrezeptoren gerechnet werden: solcher, deren Aktivierung zu gesteigerter Cyclo-AMP-Synthese Anlaß gibt — wie im Bereich des Nucleus caudatus nachgewiesen — , und solcher, die adenylatcyclase-unabhängig auf die Zelle Einfluß nehmen. Letztere mögen in nigro-neostriatalen Neuronen und mammotropen Hypophysenzellen vertreten sein. Entsprechend findet man in einigen zentralen Nervenzellen auf Dopamineinwirkung reaktive Änderung der Membranpolarisation, die in Monolayer-Kulturen von Laktotropen offenbar nicht vermerkt werden kann. Diese Beobachtung hat zu der Behauptung geführt, Dopamin beeinflusse hypophysäre Prolactinzellen vermutlich genau umgekehrt wie TRH, das die Abfeuerung von Aktionspotentialen über Erhöhung des Membranwiderstandes,jedoch ohne registrierbare Depolarisation, steigert (RAYMOND et al., 1978; HARRIS et al., 1978; EUVRARD et al., 1979; DUFY et al., 1979).

Die verantwortlichen, dopaminergen Neurone in der Eminentia mediana entspringen vorwiegend von Zellkörpern der benachbarten Nuclei arcuatus et periventricularis anterior, wohingegen an der Prolactinregulation beteiligte, verstreut über Eminentia mediana, Hypothalamus und Area preoptica anzutreffende, noradrenerge Terminalien ihren Ursprung kaum im Hypothalamus, meist weiter entfernt in Pons und Medulla nehmen, und im medialen Vorderhirnbündel als "ventraler, noradrenerger Nervenzug" unter Aussendung zahl-

reicher, kollateraler Bahnen verlaufen.
Dabei herrscht in Bezug auf die Rolle von Noradrenalin bei der Prolactinsekretion alles andere als Übereinstimmung. Während Läsionen des ventralen, noradrenergen Traktes den preovulatorischen Prolactinanstieg blockieren, schwächt zum Beispiel α-adrenerge Stimulation die insulininduzierte Prolactinfreisetzung ab, so daß Noradrenalin vermutlich, — Speziesunterschiede eingeschlossen — lokalisations- und situationsabhängig, je nach Stimulusqualität und Richtung einlaufender Signale, sowohl hemmenden, wie fördernden Einfluß geltend machen kann. Diese Beobachtungen erscheinen weit weniger überraschend, wenn man bedenkt, daß der Noradrenalin-Turnover auch in anderen Hirnstrukturen nicht immer in gleicher Richtung moduliert, sondern — anbetrachts der fehlenden, topologischen Orientierung noradrenerger Axonkollateralen — ganz besonders dem lokal spezifizierenden Eingreifen anderer Neurone ausgesetzt wird.
Serotoninerge Bahnen steigen vom Mittelhirn auf, treten mit dem medialen Vorderhirnbündel in Verbindung und enden diffus im Hypothalamus mit besonders dichter Innervation des Nucleus suprachiasmaticus, der Regio retrochiasmatica und der vorderen Eminentia mediana. Sie sollen primär stimulierende Wirkung auf die Prolaktinausschüttung zeigen, vor allem im Zusammenhang mit adäquaten Reizen wie Saugen, wobei sich diese Effekte offenbar unabhängig von dopaminergen Systemen, also nicht über direkte Blockierung derselben

durchsetzen. Dagegen entfalten cholinerge Mechanismen ihre hemmenden Aktionen vermutlich im Rahmen einer Dopaminanregung.

Histamin (+) scheint sich bei stressverursachter Prolactinerhöhung einzuschalten. Auch GABA (+ ?), Substanz P (+ ?), Cholezystokinin (+ ?), Vasoaktives Intestinalpeptid (VIP, + ?), Arginin-Vasotocin (+/- ?), Neurotensin (- ?), und Gastrin (- ?) dürften ihre Wirkungen unter bestimmten Bedingungen zum Tragen kommen lassen, wobei zumindest einige dieser Substanzen Kandidaten für eine modulierende Beeinflussung anderer Neurone darstellen (LANCRANJAN et al., 1978; HARRIS et al., 1978; WEINER et al., 1978; VIJAYAN et al., 1978a, b, c; 1979a, b, c; 1980; HUTCHINSON, 1978; EVERETT, 1978; JEFFCOATE, 1978; LINCOLN, 1978; McCANN et al., 1979; KRULICH, 1979; HÖKFELT et al., 1979; McCANN, 1980).

Wie, wo und warum gewisse, eintreffende Signale Anlaß zur Prolactinfreisetzung geben können, ist letztlich noch immer ein Rätsel. Dennoch lassen zahlreiche Versuche zumindest auf die Existenz verschiedener, voneinander mehr oder weniger unbeeinflußter, neuraler Wege schließen, von denen ein Teil auf unbedeutendere Stimuli hin in eine PRF-Entladung mündet, ein anderer Teil hingegen wesentliche Informationen in Form einer Hemmung nachfolgender —vermutlich dopaminerger— Neurone bzw. Ketten von Neuronen übermittelt.

So stellt man sich heute folgende "Hauptstrecken" vor

1) Aufsteigende Bahnen, die über den Tractus spinothalamicus und das mediale Vorderhirnbündel der Area preoptica zustreben;
2) Absteigende Nervenzüge, die von der orbitofrontalen Neocortex über Claustrum, Capsula externa und Corpus striatum ebenfalls in die Area preoptica einlaufen;
3) Informationsträger, die von den Amygdala kommend, über die Stria terminalis eintreffen.

Die Kontaktaufnahme zu den, mit der tonischen Freisetzung von PIF befaßten, dopaminergen Neuronen erfolgt entweder direkt über axo-dendritische Synapsen im Bereich von Areae preoptica et anterior hypothalami oder unter Zwischenschaltung hemmender Interneurone. So scheint ein speziell im Bereich des Nucleus ventromedialis massiert auftretender, bipolarer Nervenzelltyp mit derartigen Unterbrecherfunktionen betraut zu sein, während ebenfalls dort identifizierte, multipolare — eventuell cholinerge — Neurone vermutlich an der Aufrechterhaltung des exzitatorischen Status dopaminerger Nervenzellen beteiligt sind (TINDAL, 1978; LINCOLN, 1978; EVERETT, 1978; HUTCHINSON, 1978; HÖKFELT et al., 1979),
Signale zur Prolaktinausschüttung träfen also auf die Interneurone, die —hemmend auf die benachbarten, multipolaren Zellen einwirkend— zu einer zeitweisen Ausschaltung des dopaminergen Tonus führten, und damit die von der hyperpolarisierenden PIF-Aktion befreiten, hypophysären Laktotropen zur Spontandepolarisation veranlaßten.

4.2. PRÜFUNG EINES HYPOPHYSÄREN ANGRIFFSPUNKTES ENDOGENER OPIATE

Eines der ersten in-vivo-Experimente, das sich mit der Frage nach dem Wirkungsort endogener Opiate — speziell im Rahmen der Prolactinkontrolle — auseinandersetzte, zeigt, daß Naltrexonverabfolgung (1 mg/kg i.p.) bei intakten, männlichen Ratten, ebenso wie bei Tieren mit vorangegangener Deafferentation des Hypothalamus innerhalb von 20 Minuten zu einem ca. 50 %igen, über zwei Stunden anhaltenden Abfall der basalen Serum-Prolactinkonzentration führt, und zudem — unabhängig von Hypothalamusdeafferentation — morphinverursachte Prolactinspiegelanhebung zu egalisieren vermag (GRANDISON et al., 1977). Damit war es naheliegend, den Opioidangriffspunkt auf Hypothalamus-Hypophysen-Ebene zu suchen.
Weiterhin ergab sich diese Folgerung aus Tests, in denen männlichen Ratten ß-Endorphin (1 µg) direkt in den mediobasalen Hypothalamus appliziert wurde, nachdem die Tiere 10 Minuten zuvor Naltrexon (1 mg/kg) intraperitoneal erhalten hatten. Der Opiatantagonist blockiert auch unter diesen Bedingungen den opioidinduzierten Prolactin-Peak (GRANDISON et al., 1977).

Um zu sehen, ob Opioide und Naloxon ihre Wirkungen auf den Plasma-Prolactinspiegel über direkte Beeinflussung der Hypophyse entfalten, unternahmen SHAAR et al. (1977) in vitro-Versuche an inkubierten Hypophysenvorderlappen weiblichen Ratten. Dabei testeten sie Morphin, Met-Enke-

phalin, zwei längerlebige Enkephalin-Analoge (D-Ala^2-Met^5- und D-Ala^2-Leu^5-Enkephalin) sowie Naloxon, die sie jeweils in steigender Dosierung (bis zu 10 µg/ml) dem Medium zusetzten (Inkubationsdauer: 4 Stunden). Es gelang ihnen in keinem Fall, einen signifikanten Effekt nachzuweisen.

Ebenso fanden GRANDISON et al. (1977), die in vitro den Naltrexoneinfluß (bis 10^{-4} M) auf Hypophysenvorderlappen männlicher Ratten prüften, keine Abweichung im Prolactingehalt des Mediums von den Kontrollinkubaten.

Eine andere in-vitro-Untersuchungsserie an isolierten Adenohypophysen männlicher Ratten erstreckte sich auf die Zufügung von Morphin oder Haloperidol, jeweils allein bzw. in Kombination mit Dopamin (2×10^{-5} M), zum Inkubationsmedium. Dabei beweist Morphin (10^{-7}; 10^{-5}; 10^{-4}; 10^{-3} oder 2×10^{-5} M) weder einen Einfluß auf die spontane, noch die dopamingehemmte, hypophysäre Prolactinsekretion, und auch der Prolactingehalt des Gewebes — nur nach alleiniger Opiatzugabe gemessen — bleibt unberührt. Wie erwartet, wird dagegen die Aktion von Dopamin durch haloperidolbedingte Rezeptorblockade aufgehoben (MURAKI et al., 1978).

Obwohl demnach bereits von verschiedener Seite auf der Grundlage von in-vitro-Versuchen ein Eingreifen endogener Opiate in die Prolactinregulation auf hypophysärem Level weitgehend ausgeschlossen worden war (SHAAR et al., 1977;

GRANDISON et al., 1977; MURAKI et al., 1978), griffen ENJALBERT et al. (1979a und b) diese Möglichkeit noch einmal auf, indem auch sie davon ausgingen, daß Dopamin bekanntlich hemmende Wirkung gegenüber den zur Spontandepolarisation fähigen, laktotropen Hypophysenzellen entfaltet.

Sie inkubierten durch mittleren Sagittalschnitt halbierte Hypophysenvorderlappen männlicher Ratten, wobei jeweils eine Hälfte als Kontroll-, die andere als Testmaterial diente, und ermittelten den Prolactingehalt (RIA) stets parallel aus Medium und Gewebsextrakt, so daß alle Resultate als Prozentsatz freigesetzten Prolactins vom Gesamtgehalt der Hypophyse ausgedrückt werden konnten.

Auch hier sind weder Morphin (10^{-6} M), Met-Enkephalin (10^{-6} M), noch ß-Endorphin (5×10^{-7} M) oder Naloxon (10^{-6} M) in der Lage, allein die Prolactinsekretion zu verändern. Dagegen blockieren alle drei getesteten Opioide signifikant die dopamininduzierte Depression der Prolactinabgabe, während Naloxon — die Dopaminaktion allein nicht antastend — einen im Grad dosisabhängigen Opioidantagonismus verzeichnen läßt. Keine der Drogen führt zu einer Änderung der Prolactinkonzentration im Gewebshomogenat.

Die Erstellung einer Dosiswirkungskurve für Met-Enkephalin hinsichtlich seines Hemmeffektes gegenüber Dopamin (10^{-7} M) enthüllt, daß die Konzentration von 10^{-6} M zu kompletter Aufhebung des Dopamineinflusses führt, und die

wirksame Minimaldosis bei ca. 4 x 10^{-8} M (Lineweaver-Burk-Auftragung) liegt. Völlige Wiederherstellung der — durch Met-Enkephalin (10^{-7} M) beeinträchtigten — Dopaminaktion (10^{-7} M) gelingt bei Zusatz von 10^{-7} M Naloxon. Ein anderer Opiatantagonist (Mr 2266) beweist ähnliche Eigenschaften, sein optisches Isomer (Mr 2267) dagegen erzielt keinerlei Echo.

Abbildung 14 gibt einen Querschnitt repräsentativer Daten wider, auf deren Grundlage frühere Untersuchungen, die eine Opioid-Dopamininteraktion in der Adenohypophyse ausgeschlossen hatten, zumindest stark in Frage gestellt werden. Durch die In-Relation-Setzung der Werte findet einerseits Berücksichtigung der Sekretionsrate in Abhängigkeit von der jeweiligen, hypophysären Prolactinkonzentration statt, andererseits wird die doppelte Hormonanalyse in sämtlichen Testreihen durchgeführt, während MURAKI et al. (1978) lediglich im Zusammenhang mit alleiniger Morphinzugabe die Prolactindaten aus Gewebsextrakt und Medium gleichzeitig, sonst nur aus letzterem bestimmen. Wie eine vergleichende Betrachtung der Versuchsanordnung beider Arbeitsgruppen demonstriert, erscheinen auch in anderen Punkten deutliche Abweichungen, die eine zusätzliche Erklärung für die differierenden Ergebnisse anbieten (Tabelle 4).

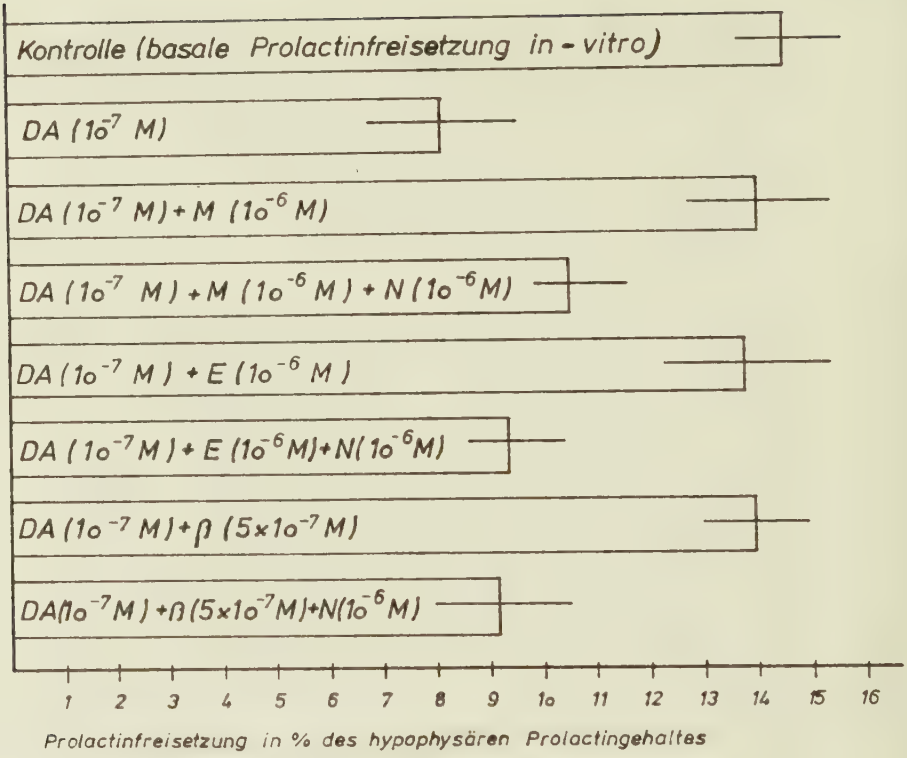


Abb. 14: Einwirkung von Morphin (M), Met-Enkephalin (E) und ß-Endorphin (ß) allein oder in Kombination mit Naloxon (N) auf die dopamininduzierte (DA) Hemmung der Prolactinfreisetzung inkubierter Hypophysenvorderlappen männlicher Ratten.
(n = 8-16 für jede Säule)
(nach Angaben von ENJALBERT et al., 1979a und b)

Mit ihren Experimenten rücken ENJALBERT et al. (1979a und b) die Beeinflussung der Prolactinausschüttung durch endogene Opiate in neues Licht. Vermögen die Resultate auch nicht, einen hypothalamischen Opioidangriffspunkt zu widerlegen, so weisen sie doch ganz entschieden auf die zu-

Tabelle 4: Vergleich der in-vitro-Versuchsanordnung zweier Arbeitsgruppen zur Prüfung eines hypophysären Angriffspunktes von Opiaten im Rahmen ihrer prolactinstimulierenden Wirkung

	MURAKI et al. (1978)	ENJALBERT et al. (1979a und b)
Material	isolierte, durch medianen Sagittalschnitt halbierte Hypophysenvorderlappen (je eine Hälfte als Test-, die andere als Kontrollinkubat)	
Herkunft des Versuchsmaterials	Ratten, ♂, (Wistar)	
Anzahl der Testinkubate/Versuch	4 - 5	8 - 16
Inkubat. medium	Medium 199 (Difco)	Medium 199 HEPES (Gypco)
Zusätze zum Medium	keine Angaben	Bacitracin 2 x 10^{-5}M* Ascorbinsäure 10^{-4}M**
Atmosphäre	95 % O_2; 5 % CO_2; 37°C	
Preinkubationszeit	30 Minuten	2 x 45 Minuten
Inkubationszeit	60 Minuten	
Prolactinmessung: mittels	RIA (NIAMDD - RP_1 - Standard)	
im Medium	bei allen Versuchen	
im Gewebsextrakt	nur nach alleinigem Morphinzusatz	stets parallel zur Messung im Medium
Ergebnis ausgedrückt in:***	P_m (bzw. P_g)	$P=\left[\frac{P_m}{P_m+P_g}\right]K-\left[\frac{P_m}{P_m+P_g}\right]T$
in Kombinat.getest.Dosen:		
Dopamin	2 x 10^{-5}M	10^{-7}M
Morphin	2 x $10^{-5}/10^{-4}/10^{-3}$M	10^{-6}M

* gegen enzymat. Zerstörung der Peptide

** Oxidationsschutz für Dapamin

*** P_m = Prolactin im Medium (ng/mg Gewebe/h); P_g = Prolactin im Gewebe (µg/mg); K = Kontrollinkubat; T = Testinkubat

sätzliche Möglichkeit einer direkten Opiat-Dopamin-Interaktion bei der Steuerung der Prolactinabgabe laktotroper Hypophysenzellen hin.

Dabei offenbaren Opioide lediglich in Gegenwart von Dopamin ihre Fähigkeiten, indem sie dessen hemmenden Einfluß auf die spontane, zelluläre Prolactinfreisetzung weitgehend ausschalten. Opiatantagonisten allein mischen sich nicht in die Dopaminaktion ein, sondern setzen die Anwesenheit von Opioiden voraus, um — deren Effekte blockierend — eine Reetablierung der Dopaminwirkung zu erzielen. Nachdem Opiate nicht mit der spezifischen Bindung von Dopaminanta- und-agonisten an die Zellmembran Laktotroper interferieren (LABRIE et al., 1978), drängt sich die Vermutung auf, daß zwei verschiedene, voneinander unabhängige Bindungsstellen — für Dopamin einer-, für Opiate andrerseits — die prolactinregulierende Funktion dieser Substanzen auf Hypophysenebene vermitteln.

Die Einschaltung von Opiatrezeptoren wird nicht zuletzt enthüllt durch die Beobachtung, daß Naloxon zwar durch den Opiatantagonisten Mr 2266, nicht jedoch durch dessen optisches Isomer (Mr 2267) zu ersetzen ist. Daneben spricht die bereits bei sehr niedrigen Antagonistendosen beginnende Unterdrückung der Opioidwirkung für die Einbeziehung spezifischer Bindungsstellen, da mit einer eventuellen Einflußnahme auf andere Rezeptoren erst bei wesentlich höheren Konzentrationen gerechnet werden darf

(SNYDER, 1974). Eine weitere Bestätigung ergibt sich daraus,daß Opiate ihre Affinität zu den Rezeptoren im zentralen Nervensystem schon bei ca. 10^{-9} M entwickeln, gegenüber denjenigen der Hypophyse aber — wie auch an der hier ermittelten, wirksamen Minimalkonzentration von Met-Enkephalin (4×10^{-8} M) abzulesen ist — deutlich zurückhaltender sind (LORD et al., 1976; 1977; FERRARA et al., 1979; LAW et al., 1979; GRANDISON et al., 1980).

Die Tatsache, daß die Adenohypophyse, im Gegensatz zum Neurallappen, einerseits arm an Opiatbindungsstellen ist, andrerseits bei männlichen Ratten physiologischerweise einen nur geringen Anteil laktotroper Zellen aufweist, bestärkt ENJALBERT et al. (1979a und b) angesichts ihrer Resultate in der Vermutung, daß die hypophysären Opiatrezeptoren an den prolactinsezernierenden Zellen lokalisiert sind.

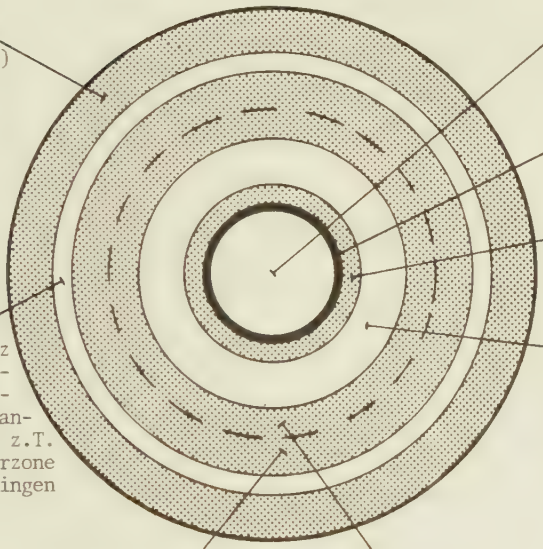
Nachdem Laktotrope offenbar keine dopaminabhängige Adenylatzyklase besitzen, außerdem in Abwesenheit von PIF zur spontanen Hormonabgabe befähigt sind — unterstrichen durch das Versagen depolarisierender Stimuli, wie hoher K^+-Konzentrationen, die bereits erhebliche, basale Prolactinsekretion in vitro weiter zu steigern — ergibt sich die Hypothese, daß Dopamin die Prolactinexozytoserate herabsetzt, indem es die in Ruhe hochaktiven Ca^{++}-Kanäle dieser Zellen beeinträchtigt. Scheinbar inaktiv, solange die meisten Ca^{++}-Tubuli offen bleiben, würden endogene Opiate dann über Stimulation ihrer Rezeptoren Dopamin an der Hemmung des Ca^{++}-Influx hindern (ENJALBERT et al.,1978; 1979a und b; KORDON et al., 1979).

4.3. EFFEKTE ENDOGENER OPIATE AUF DEN CATECHOLAMIN-TURNOVER

Die Eminentia mediana weist reichlich catecholaminerge Nervenendigungen auf, wobei Noradrenalin vor allem in der subependymalen Schicht, sowie in geringerem Umfang in der medialen Palisadenzone vertreten ist, die Dopamin mit ca. 50-75 % des totalen Catecholaminanteils beherrscht. Zudem enthält die laterale Palisadenzone fast ausschließlich Dopamin (Abb. 15) (LÖFSTRÖM et al., 1976; LINCOLN, 1978; EVERETT, 1978; HÖKFELT et al., 1979; ELDE, 1979).

Im Zusammenhang mit Bestimmungen von Catecholaminkonzentration und -Turnover in der Eminentia mediana prüften FERLAND et al. (1977) die Effekte von Met-Enkephalin auf die Prolactinfreisetzung. Dazu infundierten sie Met-Enkephalin (60 µg in 20 µl physiologischer NaCl-Lösung über 1 Stunde) bzw. physiologische Kochsalzlösung (Kontrolle) in den lateralen Ventrikel männlicher Ratten, die unter Fluothan-Anästhesie gehalten wurden. Jeweils der Hälfte jeder Gruppe wurde mit Beginn der Infusion ein Tyrosinhydroxylase-Hemmer (α-Methyltyrosin-Methylester; H 44/68; 250 mg/kg) intraperitoneal appliziert, mit dessen Hilfe, d.h. über Entleerung der Catecholaminspeicher, Änderungen im Turnover registrierbar werden sollten. Sofort nach der Infusion wurden die Tiere dekapitiert, der Serum-Prolactinspiegel durch Radioimmunoassay, der Catecholamingehalt der Eminentia mediana-Re-

Abb. 15: Schematische Darstellung der Eminentia mediana mit Erläuterungen zu den einzelnen Zonen



Mit den langen Basalfortsätzen der Tanyzyten, Gliazellen und den Axonterminalien des TRACTUS TUBERO-INFUNDIBULARIS des Adenohypophysensystems

gionen mittels quantitativer Mikrofluorimetrie erfaßt.

Nach Met-Enkephalin zeigt sich gegenüber den NaCl-Kontrolltieren eine Erhöhung der Catecholaminkonzentration in der medialen Palisadenzone um 35 %, in der lateralen um knapp 10 %, dagegen ein Absinken um ca. 28 % in der subependymalen Schicht. Der Prolactinwert beläuft sich auf etwa 400 % der NaCl-Vergleichswerte. H 44/68 führt zu deutlicher Entleerung der Catecholaminspeicher, begleitet von einem enormen Anstieg (600 %) des Prolactinspiegels. Met-Enkephalin bei H 44/68 - behandelten Tieren vermag den Catecholaminverlust in medialer wie lateraler Palisadenzone signifikant zu reduzieren (je ca. 150 % der H 44/68 - Kontrolltiere), wohingegen es den H 44/68-induzierten Abfall in der subependymalen Schicht unbeeinflußt läßt. Serum-Prolactin klettert nach Met-Enkephalin-H 44/68 noch weiter in die Höhe (800 % im Vergleich zu NaCl-Kontrollwerten).

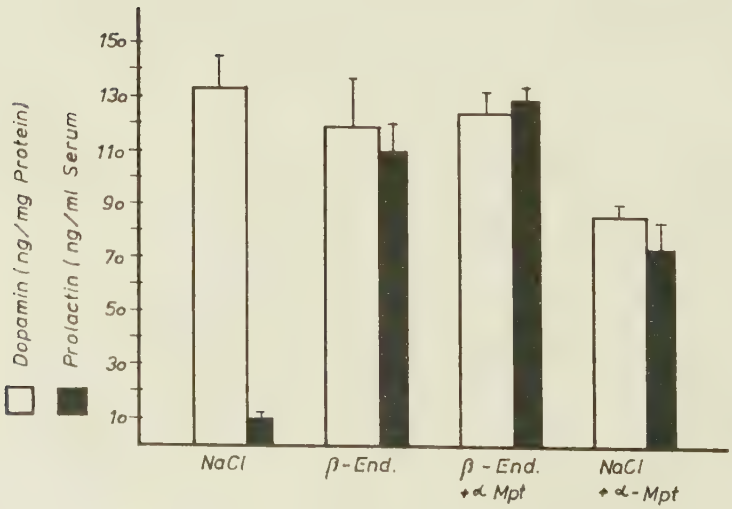
Die Ergebnisse deuten an, daß durch Met-Enkephalin der Catecholamin-Turnover in lateraler wie medialer Palisadenzone, wo hauptsächlich dopaminerge Nervenendigungen anzutreffen sind, signifkant abnimmt, weshalb sich die Syntheseblockierung durch Tyrosinhydroxylasehemmer wesentlich weniger bemerkbar macht. Eine Begründung für den enkephalinverursachten Noradrenalinabfall in der subependymalen Schicht könnte — angesichts der ausbleibenden Steigerung des H 44/68-Effektes durch Met-Enkephalin —

in einer opioidinduzierten Syntheseverminderung gesehen werden.
Somit dürften endogene Opiate ihre prolactinstimulierende Wirkung zumindest teilweise über Reduktion der Dopaminaktivität in der Eminentia mediana entfalten. Inwieweit Opioid-Einflußnahme auf die Noradrenalinkonzentration dem gleichen Ziel dient, sei augenblicklich dahingestellt.

In einer ähnlich angelegten Versuchsreihe an männlichen Ratten gelang es, entsprechend unter Zuhilfenahme von α-Methyl-p-tyrosin (250 mg/kg i.p.), auch für ß-Endorphin (2 x 20 µg im Abstand von 30 Minuten i.c.v.) eine Herabsetzung der Dopamin-Turnoverrate in der Eminentia mediana nachzuweisen (VAN VUGT et al., 1979; 1980). Die Dopaminbestimmung erfolgte hier für die ganze Eminentia mediana auf radioenzymatischer Grundlage.
Abweichend von den Ergebnissen von FERLAND et al. (1977) konnte keine signifikante Differenz zwischen dem Dopamingehalt nach Applikation von ß-Endorphin bzw. physiologischer NaCl-Lösung (Kontrolle) verzeichnet werden, was jedoch vermutlich der Gesamtanalyse des in der Eminentia mediana vorhandenen Dopamin anzulasten ist. Erst nach α-Methyl-p-tyrosin/ß-Endorphin zeigt sich deutlich höhere Konzentration im Vergleich zu α-Methyl-p-tyrosin/NaCl-Lösung (Abb. 16).

Weitere, an männlichen Ratten durchgeführte Dopaminturnoverstudien mittels α-Methyl-p-tyrosin (400 mg/kg i.p., 10 Minuten vor den Opioiden) erstreckten sich einerseits auf parallele Konzentrationsmessungen in Großhirnrinde, Striatum und Eminentia mediana, andrerseits auf Testung von Morphin (1,67; 5,0 und 15,0 mg/kg i.p.), neben ß-En-

Abb. 16: Auswirkung von ß-Endorphin (ß-End.; 2 x 20 µg im Abstand von 30 Min. i.c.v.) allein und in Kombination mit α-Methyl-p-tyrosin (α-Mpt; 250 mg/kp i.p., simultan mit der 1. Injektion von ß-End.) auf Dopamin-Turnover in der Eminentia mediana und Serum-Prolactinspiegel männlicher Ratten, eine Stunde nach der 1. Injektion, im Vergleich zu Kontrolltieren (physiolog. NaCl-Lösung bzw. α-Mpt/NaCl) (n = 6 für jede Gruppe)
(nach Angaben von VAN VUGT et al., 1979)



dorphin (15 µg i.c.v.) und dem Enkephalin-Analogen [D-Ala^2-D-Leu^5]-Enkephalin (25 µg i.c.v.), sowie Naloxon (5; 10; 20 mg/kg i.p., 10 Minuten vor α-Mpt).

Ein Dopamingehaltssturz in Eminentia mediana und Großhirnrinde von rund 42 %, 25 Minuten nach Applikation des Tyrosinhydroxylasehemmers, wird durch alle Opioide signifikant reduziert, wobei sich Morphin lediglich in den beiden höheren Dosen als effektiv erweist. Im Striatum zeigt sich gegenteiliger Opioideffekt: hier wird der Dopaminumsatz signifikant gesteigert. Naloxon vermag — allein wirkungslos — die Aktion von Morphin komplett, die der Opioidpeptide weitgehend aufzuheben (DEYO et al., 1979).

4.4. ÖSTROGENE, PROLACTIN UND ENDOGENE OPIATE

Von erheblicher Bedeutung für die Prolactinsteuerung stellen sich Östrogene in mehrfacher Hinsicht vor. So erhöhen sie einmal auf Hypophysenebene die Prolactinsynthese, steigern die Mitoserate laktotroper und provozieren die Transformation somatotroper in mammotrope Zellen (STRATMANN et al., 1974; LLOYD et al., 1975; WUTTKE, 1980). Zudem intervenieren sie hier gegen die Dopamineffekte. Wird Östradiol Laktotropen-Kulturen zugesetzt, provoziert es Aktionspotentiale und erweist sich als ausserordentlich potentes, antidopaminerges Agens, da Dopamin zwar in der Lage ist, spontane wie TRH-induzierte, elektrische Aktivität zu inhibieren, östrogenverursachter dagegen machtlos gegenübersteht (RAYMOND et al., 1978; LABRIE et al., 1978; HARRIS et al., 1978; DUFY et al., 1979; EUVRARD et al., 1979). Andrerseits wird die direkte, stimulierende Östrogenwirkung auf die Prolactinsekretion wahrscheinlich durch Progesteron antagonisiert (WUTTKE, 1980).

Ohne die Möglichkeit einer daneben stattfindenden, direkten Steroideinflußnahme auszuschließen, kann man davon ausgehen, daß sich prolactinstimulierende Östrogeneinwirkung auf Laktotrope in sekundärer Modulierung der Aktivität des hypothalamischen, tuberoinfundibulären, dopaminergen Neuronennetzes äußert. Dort veranlassen — wie im Zusammenhang mit der Pathogeneseaufklärung des hyperprolactinämischen Amenorrhoe-Syndroms der Frau an Experi-

menten mit Labortieren gezeigt— hohe Prolactinspiegel zu einer reaktiven Steigerung des Dopaminumsatzes.
Weitere Östrogen-Dopamin-Interaktionen lassen sich im Bereich von Limbischem System, besonders Amygdala, und Basalganglien nachweisen. In diesem Zusammenhang ist es interessant zu erwähnen, daß Prolactin, in Gemeinschaft mit Ovarsteroiden, eine wesentliche Aufgabe bei der Ausprägung mütterlichen Verhaltens zufallen soll, wobei schwellensenkende Einwirkung auf das Corpus striatum —eine neurale Schaltstelle für genetisch vorgeprägte Instinktnormen— angenommen wird. Außerdem konnten für diese Region antagonisierender Östrogeneinfluß gegenüber der Dopamininhibition cholinerger Neurone, wie östrogeninduzierte Verminderung des Dopamin-Turnover bewiesen werden, womit sich einmal mehr die enge Verknüpfung von Ovarsteroiden, dopaminergen Systemen und zentraler Prolactinsteuerung andeutet (MacLEAN, 1972; LÖFSTRÖM et al., 1977; EUVRARD et al., 1979; HÖHN et al., 1978a und b; 1979; WUTTKE et al., 1980).

Aufbauend auf die offenbar engen Verknüpfungen opioiderger und dopaminerger Systeme, bestimmten DUPONT et al. (1980) den Met-Enkephalingehalt einiger, physiologischerweise hohe Konzentrationen an immunoreaktiven, endogenen Opiaten aufweisender Hirnregionen an ovariektomierten Ratten im Anschluß an Langzeitbehandlung mit 17-ß-Östradiol

(1 µg 2 x täglich über 14 Tage s.c.) bzw. dem Dopaminrezeptorantagonist Haloperidol (0,5 mg/kg 2 x täglich über 5, und 1 mg/kg 2 x täglich über 9 Tage s.c.), also mit zwei Substanzen, die bekanntlich Einfluß auf den Dopaminumsatz zu nehmen vermögen. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe (Tabelle 5) demonstrieren, daß sich Östrogeneffekte und haloperidolinduzierte Dopaminrezeptorblockade auf die Met-Enkephalingehaltsänderungen in einigen Hirnstrukturen gleichsinnig, wenn auch dem Grad nach differierend (Erhöhung in Striatum und Area preoptica; Abfall in Amygdala und Globus pallidus), in anderen gegensätzlich (Nucleus interpeduncularis) äußern. Während Met-Enkephalin in der Zona reticulata der Substantia nigra auf keine der beiden Behandlungsformen anspricht, bleibt eine Haloperidoleinflußnahme in manchen Regionen aus, die im Gefolge der Östrogenverabfolgung Met-Enkephalin anhäufen (Nuclei interstitialis striae terminalis et septi lateralis; periaquäduktales Grau).

Diese Resultate bringen sicherlich interessante Gesichtspunkte auf, doch hat ihre Interpretation mit Vorsicht zu erfolgen. So ist einmal zu bedenken, daß chronische Östradiolbehandlung starke Anhebung des Serum-Prolactin induziert, das wiederum zu einer Beeinflussung des Doppaminumsatzes führen kann, wenn auch unsicher ist, welche Hirnstrukturen von derartigen Prolactin-Rückkopplungseffekten betroffen sein mögen. Im Fall von Haloperidol muß auf chronische Verabreichung hin eine Änderung der

Tabelle 5: Einfluß einer Langzeitbehandlung mit 17 ß-Östradiol oder Haloperidol auf den Met-Enkephalingehalt verschiedener Hirnregionen ovariektomierter Ratten

(nach DUPONT et al., 1980)

	Met-Enkephalinkonzentration nach	
	17 ß-Östradiol	Haloperidol
Striatum	[↑]	↑
Nucl.septi lateralis	[↑]	◎
Nucl. interstit. striae terminalis	↑	◎
Area preoptica medialis	↑	↑
Area preoptica lateralis	↑	↑
Nucl. amygdaloideus med.	↓	[↓]
Nucl. amygdaloideus centralis	↓	[↓]
Nucl. interpeduncularis	[↓]	↑
Substantia nigra, Zona reticulata	◎	◎
Periaquäduktales Grau	↑	◎
Globus pallidus	↓	[↓]

↑ Erhöhung ↓ Abfall [ ] Tendenz ◎ kein Effekt

Dopaminrezeptorsensibilität einkalkuliert werden, der offenbar durch Steigerung der Dosis im Behandlungsverlauf Rechnung getragen werden sollte. Endlich lassen Konzentrationsmessungen grundsätzlich nur mit Vorbehalt auf die Aktivität neuronaler Strukturen schließen, da sich beispielsweise Synthesesteigerung und verminderte Freisetzungsrate unter gewissen Umständen gleichsinnig darstellen können. Mit Bedauern ist zu vermerken, daß die Tageszeit, zu der die Tötung der Ratten erfolgte, nicht angegeben wurde.

4.5. SUBSTANZ P - OPIOID - INTERAKTIONEN

Substanz P, einem Undecapeptid — ursprünglich aus Hypothalamusgewebe isoliert, mittlerweile in zahlreichen Regionen des zentralen Nervensystems nachgewiesen — wird nach intracerebroventrikulärer Verabreichung stimulierender Effekt auf die LH- und Prolactinfreisetzung zugeschrieben (VIJAYAN et al., 1979a), den es nach intravenöser Gabe nur auf Prolactin geltend machen kann (McCANN et al., 1979). Entsprechend soll es auf hypophysärer Ebene anregenden Einfluß auf die Hormonausschüttung laktotroper Zellen nehmen, während gonadotrope offenbar nicht berührt werden (VIJAYAN et al., 1979a; McCANN, 1980).

In einer Versuchsreihe an männlichen Ratten erweist sich Substanz P (10^{-9} M), gemeinsam mit ß-Endorphin (10^{-10} M) in den lateralen Ventrikel injiziert, als bedeutender Förderer der Opioidwirkung (Abb. 17), während es in diesen Experimenten allein keine signifikante Steigerung der Prolactinsekretion hervorruft.

Zusätzliche Applikation von Naloxon (10^{-9} M) führt nicht nur zur Depression des ß-endorphinverursachten, sondern ebenso des durch Substanz P potenzierten Prolactinanstiegs (Abb. 17), was die Vermutung aufwirft, Substanz P moduliere die Prolactinabgaberate erst nach erfolgter Opiatrezeptoraktivierung durch ß-Endorphin (CHIHARA et al., 1978).

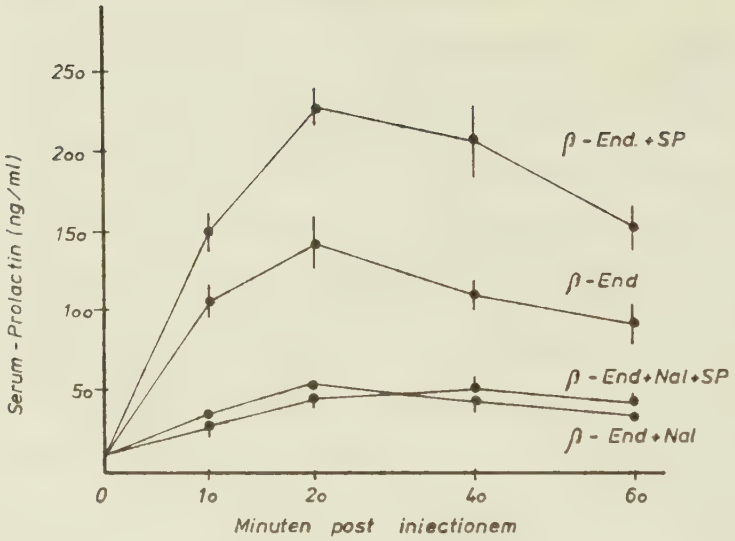


Abb. 17: Beeinflussung des Serum-Prolactinspiegels männlicher Ratten durch i.c.v. Applikation (zur Zeit 0) von ß-Endorphin (ß-End., 10^{-10} M) allein oder simultan mit Substanz P (SP; 10^{-9} M), sowie Auswirkung jeweils kombiniert verabfolgten Naloxons (Nal; 10^{-9} M).
(nach CHIHARA et al., 1978)

4.6. VERSUCHE ZUR AUFKLÄRUNG DES OPIOIDANGRIFFSPUNKTES DURCH TESTUNG VERSCHIEDENER, DIE WIRKUNG VON NEUROTRANSMITTERN BEEINFLUSSENDER DROGEN

4.6.1. Dopaminerge Drogen

Die immer stärker vertretene Ansicht, endogene Opiate modulierten die Prolactinfreisetzung im Rahmen einer Interaktion mit hypothalamischen, biogenen Aminen, veranlaßte dazu, zahlreiche Versuchsreihen vorzunehmen, in denen mehrere Dopaminanta- und -agonisten in Zusammenhang mit Opioiden und/oder Naloxon hinsichtlich der Effekte auf die Serum-Prolactinwerte überprüft wurden.

Eine zusammenfassende Darstellung der Untersuchungen von MEITES et al. (1979) und VAN VUGT et al. (1979) an männlichen Ratten, die jeweils 60 oder 120 Minuten nach Applikation von Morphin, verschiedenen Testdrogen oder simultan injizierten Kombinationen derselben dekapitiert wurden, sowie der daraus gewonnenen Resultate bringt Tabelle 6. Es läßt sich erkennen, daß

- L-Dopa, Piribedil und Amineptin einen signifikanten Prolactinabfall, bzw. Haloperidol einen -anstieg noch 2 Stunden post iniectionem bewirken, während die morphininduzierte Prolactinerhöhung zu dieser Zeit nicht mehr feststellbar ist.
- Morphin den L-Dopa-, wie den Piribedileffekt kaum zu beeinflussen, den von Haloperidol nicht weiter zu

Tabelle 6: Prüfung verschiedener Dopaminanta- und agonisten allein und in Kombination mit Morphin bezüglich der Effekte auf den Serum-Prolactinspiegel männlicher Ratten nach i.p. bzw. s.c. Applikation

(Zusammenfassende Darstellung der Versuchsreihe von MEITES et al., 1979 und VAN VUGT et al., 1979)

Applizierte Droge(n) (Dosis in mg/kg KGW)	Eigenschaft der Droge bzw. Fragestellung der Untersuchung	Effekt auf Serumprolactin*	
		1Std.p.i.	2Std.p.i.
0,87 % NaCl-Lösung	Kontrolle	1	1
L-DOPA (50)	Dopaminvorstufe	0,2	0,5
Piribedil (3)	Dopaminagonist	0,2	0,5
Amineptin (20)	Dopamin-Reuptake-Inhibitor	0,5	0,5
Haloperidol (1)	Dopamin-Rezeptorblocker	2,5	2,5
Morphinsulfat (10)	Opiatagonist	2,5	1
L-DOPA (50) + Morphinsulfat (10)	Antagonismus?	0,3	0,5
Piribedil (3) + Morphinsulfat (10)		0,3	0,5
Amineptin (20) + Morphinsulfat (10)		1	0,5
Haloperidol (1) + Morphinsulfat (10)	Synergismus?	2,5	2,5
Haloperidol (0,025/0,05)	Unterdosierung (ohne meßbaren Effekt auf den Prolactinspiegel 1 Stunde p.i.)	1/1	-
Morphinsulfat (5)		1	-
Haloperidol (0,025) + Morphin (5)	Ergänzungswirkung durch Kombination unterdosierter Einzeldrogen?	2	-
Haloperidol (0,05) + Morphin (5)		2,5	-

* Werte ausgedrückt als Faktor, um den die Abweichung vom Kontrollwert (= 1) erfolgt (Daten gerundet) (n = 8 für jeden Wert)

steigern, den amineptinverursachten Prolactinsturz jedoch in der 1. Stunde p.i. zu egalisieren vermag.

– Morphin und Haloperidol, kombiniert verabreicht in jeweils allein unwirksamer Menge, gemeinsam zu einer Prolactinstimulierung führen können.

Auf der einen Seite die Ohnmacht von Morphin, in Gegenwart hoher Dopamin- bzw. -agonistenkonzentrationen (Applikation von L-Dopa bzw. Piribedil) die Prolactinsekretion zu fördern, auf der anderen Seite seine Fähigkeit, die Amineptinwirkung — wohl unter Verminderung des dem Reuptake-Inhibitor verfügbaren Dopaminanteils — aufzuheben, mag die Vermutung bekräftigen, daß die Opioidaktion zumindest teilweise auf einer Reduktion des hypothalamischen Dopamin-Turnover basiert, zumal kürzlich ein derartiger Angriffspunkt von Met-Enkephalin wie von ß-Endorphin in der Eminentia mediana gezeigt werden konnte (FERLAND et al., 1977; VAN VUGT et al., 1979). Daß bei simultaner Verabfolgung mit Haloperidol ein Morphineffekt vermißt wird, ist auf die Dosis des Rezeptorblockers (1 mg/kg), die offensichtlich bereits maximale Dopaminhemmung erzielt, zurückzuführen. Bei Unterdosierung jedes der beiden Komponenten ergibt sich nämlich eine deutliche Prolactinerhöhung, womit auch hier der Schluß naheliegt, daß opiatbedingte Dopaminumsatzverminderung und Blockierung der Bindungsstellen durch Haloperidol sich ergänzen.

In die gleiche Richtung weisen ebenfalls an männlichen Ratten durchgeführte Experimente von DUPONT et al. (1979), die anhand von häufigeren Blutentnahmen mehr über das Verlaufsmuster des Prolactinspiegels in Erfahrung bringen. So finden sie 15-30 Minuten nach Morphininjektion (5; 25; 100 mg/kg s.c.) maximale Stimulation, bald abgelöst durch progressiven Prolactinrückgang zu Basalwerten, der auch durch wiederholte Morphinapplikation, 30 und 60 Minuten nach der ersten, nicht aufzuhalten ist. Während Haloperidol (1 mg/kg), simultan mit Morphin gegeben, auch hier keinen zusätzlichen Effekt erreicht, vermag es, 45 Minuten später injiziert, die Prolactin-Refraktärperiode gegenüber Morphin zu durchbrechen. Demnach scheint die Annahme berechtigt, daß das starke Ansteigen des Prolactinlevel nach akuter Anregung durch Morphin einer Dämpfung hemmender, dopaminerger Aktivität, das nachfolgend rasche Absinken einer Rückkehr derselben anzurechnen ist, dergestalt, daß Dopaminrezeptorblockern wieder die Möglichkeit eines antagonisierenden Eingreifens gegeben wird.

Des weiteren konnte an männlichen Ratten demonstriert werden, daß die synergistische Wirkung von Opiaten und Dopaminrezeptorblockern offenbar über verschiedene Bindungsstellen vermittelt wird, da sich Naltrexon (1 mg/kg i.p.) als unfähig erweist, den durch Haloperidol (0,25 mg/kg i.p.; 45 Min. vor Naltrexon) provozierten Prolactin-Surge zu beeinflussen (GRANDISON et al., 1977). Auch

Naloxon (1 mg/kg s.c.) entbehrt eines derartigen Effektes nach simultaner Verabfolgung mit Haloperidol (10 mg/kg s.c.) (MURAKI et al., 1978).
Somit ergäbe sich erneut die Folgerung, daß Opioide ihre Aktion unabhängig von spezifischen Dopaminrezeptoren entfalten, weshalb der Einsatz von Opiatantagonisten zur Depression der durch Dopaminrezeptorblocker induzierten Prolactinerhöhung fehlschlagen muß.
Allerdings taucht ein gewisser Widerspruch durch Prolactinspiegelverlaufskontrollen an Affen auf, wonach Haloperidol (0,1 mg/kg i.v.), zwar unbeeinflußt durch vorangehende Naloxonapplikation (0,25 mg/kg i.v., 15 Minuten vor Haloperidol), 45 Minuten post iniectionem seinen typischen Prolactin-Peak zeichnet, dann jedoch in jedem Punkt — 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten p.i. — eine Depression hinnehmen muß, so daß sich seine Kurve unter dem Einfluß des Opiatantagonisten schneller wieder dem Ausgangsniveau nähert (GOLD et al., 1979). GOLD schließt daraus, daß sich der dominierende Effekt von Haloperidol zwar gegen das dopaminerge System richtet, die Droge daneben aber — angesichts ihrer Opiatverwandtschaft — in geringerem Ausmaß zu einer Stimulation von Opiatrezeptoren führe, auf deren Konto die durch Naloxon abschwächbare, prolactinstimulierende Haloperidolwirkung — 45 Minuten p.i. und danach — gehe.

Bei 10 Personen (9 ♂; 1 ♀), die an zwei Versuchstagen je 500 mg L-Dopa oral und einmal simultan 10 mg Naloxon i.v. erhielten, demonstriert der Opiatantagonist (30, 60, 90, 120 Min. p.i.) keinerlei Abänderung des Prolactinabfalls auf L-Dopa (MORLEY et al., 1980). Dem Versagen von Opioiden, in Anwesenheit hoher Dopaminagonistenkonzentrationen eine Steigerung der Prolactinsekretion bei männlichen Ratten zu induzieren (MEITES et al., 1979; VAN VUGT et al., 1979), steht demnach die Unfähigkeit von Opiatantagonisten gegenüber, beim Menschen unter diesen Bedingungen einen noch weiteren Prolactinsturz zu erzielen.

Bei Verabreichung von α-Methyl-p-tyrosin (250 mg/kg i.p.) an männliche Ratten, das in ihren Experimenten schon allein starke Zunahme der Prolactinsekretion ablesen läßt, finden KOENIG et al. (1979) auf die eine Stunde später vorgenommene Morphininjektion (3 mg/kg i.v.) hin eine deutliche Potenzierung der Hormonausschüttung. Nachdem die morphininduzierte Anhebung des basalen, wie des bereits durch α-Methyl-p-tyrosin erhöhten Prolactinspiegels in etwa das gleiche Ausmaß zeigt (Abb. 18), erblicken die Untersucher darin den Hinweis auf einen eher additiven Effekt, also eine gleichsinnige Wirkung beider Drogen unabhängig voneinander. Dabei schließen sie allerdings die Möglichkeit einer Hemmung dopaminerger Mechanismen durch Opiate nicht prinzipiell aus, sondern räumen

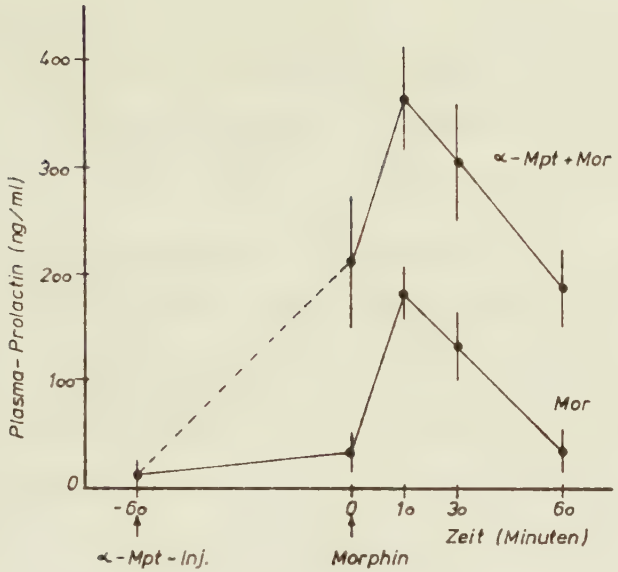


Abb. 18: Auswirkung von Morphin (Mor; 3 mg/kg i.v.; Injektion zur Zeit 0) und der Kombination Morphin/ α-Methyl-p-tyrosin (α-Mpt; 250 mg/kg i.p.; 60 Minuten vor Morphin) auf den Plasma-Prolactinspiegel männlicher Ratten.
(n = 7-8 für jeden Punkt)
(nach Angaben von KOENIG et al., 1979)

daneben die Existenz anderer Wege für diese Stoffe ein, prolactinstimulierend wirksam zu werden.

Nach simultaner Injektion mit Morphin (20 mg/kg s.c.) bei männlichen Ratten vermag Apomorphin (20 mg/kg s.c.) die opiatinduzierte Prolactinerhöhung komplett zu verhindern (MURAKI et al., 1978). Die gleiche Eigenschaft des

Dopaminrezeptoragonisten (0,015 mg/kg s.c., 30 Minuten vor Morphin, 0,4 mg/kg s.c.) wird auch bei Affen beschrieben, wo er daneben zu signifikanter Reduktion des Prolactinbasalspiegels Anlaß gibt (GOLD et al., 1979).

Die Auswirkungen von verschiedenen Dopaminanta- und agonisten auf die durch intracisternal verabfolgtes, synthetisches, humanes ß-Endorphin (0,1; 1,0 oder 15 µg) induzierte Prolactinerhöhung ermittelten VAN LOON et al. (1980) ebenfalls an männlichen Ratten, die jeweils 20, 30 oder 60 Minuten nach der i.c.-Injektion dekapitiert wurden. Die hier gewonnenen Plasma-Prolactinwerte (RIA) weisen sowohl innerhalb der Kontroll-, als auch der jeweils gleich behandelten Testgruppen außerordentlich starke Schwankungen auf, was von den Autoren selbst vermerkt wird: "... relate to a variety of factors including different sources of ß-endorphin used and interassay variation in prolactin radioimmunoassay."
Aus diesem Grund lassen sich aus den Versuchsreihen bestenfalls Tendenzen ablesen, die andeuten, daß

- Die Dopaminrezeptoragonisten Apomorphin (0,3 mg/kg s.c.) und Bromocriptin (1 mg/kg i.p.) den ß-endorphinverursachten (15 µg) Plasma-Prolactinanstieg blockieren, während Pargylin (75 mg/kg i.p.),ein Monoaminoxidase-Hemmer, lediglich zu einer Abschwächung desselben führt.
- Haloperidol (0,2 mg/kg i.p.) wie auch der Tyrosinhydroxylase-Inhibitor α-Methyl-p-tyrosin (150 mg/kg i.p.),

in jeweils allein unwirksamer Dosis mit ebenfalls unterdosiertem ß-Endorphin (0,1 µg) synergistischen Effekt auf den Prolactinspiegel, dagegen mit effektiv dosiertem ß-Endorphin (1 µg) keine Erhöhung des Surge erzielen.

— Benztropin (25 mg/kg i.p.), als Dopamin-Reuptake-Inhibitor, in diesen Experimenten ohne Einfluß auf die ß-Endorphinaktion (15 µg) ist.

In diesem Zusammenhang sei — um ein Zahlenbeispiel für die erheblichen Abweichungen innerhalb der Kontrolldaten zu demonstrieren — erwähnt, daß die 15 µg-Dosis ß-Endorphin, 20 Minuten nach intracisternaler Verabfolgung, in diesen Versuchsreihen (n = 5 für jede Gruppe) einmal zu einer Erhöhung des Prolactinspiegels auf 334,4 ± 31,7, ein anderes Mal auf nur 116,5 ± 20,1 ng/ml führt, wobei der zweite Wert — als Vergleich zu dem nach simultaner Applikation mit Benztropin erhaltenen Plasma-Prolactingehalt von 84,8 ± 34,6 ng/ml dienend — der dopaminagonistisch wirksamen Droge eine Einflußnahme auf den ß-endorphininduzierten Prolactinsurge abspricht.

4.6.2. Serotoninerge Drogen

Nachdem im Rahmen der neuralen Prolactinregulation neben Dopamin, dem hierbei die Hauptrolle zugesprochen wird, auch 5-Hydroxytryptamin als Überträgerstoff wesentlich beteiligt zu sein scheint, nimmt es nicht wunder, daß sich ebensoviele Arbeitsgruppen mit einer etwaigen Verknüpfung endorphinerger und serotoninerger Mechanismen auseinandersetzen.

So prüften MEITES et al. (1979) an männlichen Ratten verschiedene Serotoninagonisten in Zusammenhang mit Morphin oder Naloxon auf deren Prolactineffekte. Die in Tabelle 7 zusammengefaßten Resultate enthüllen, daß

- Quipazin in allen drei getesteten Dosen eine Stunde post iniectionem zu signifikanter Anhebung des Prolactinspiegels Anlaß gibt, wobei Morphin, in Unterdosierung simultan appliziert, keinen zusätzlichen Effekt, Naloxon jedoch, 30 Minuten nach dem 5-HT-Agonisten injiziert, signifikante Reduktion des quipazinverursachten Prolactingipfels verbuchen läßt.
- Fluoxetin mit 5-Hydroxytryptophan wie mit Morphin — in jeweils allein nicht effektiver Dosis — synergistische Wirkung zeigt.
- Naloxon gegenüber der prolactinstimulierenden Kombination Fluoxetin/5-Hydroxytryptophan antagonistischen Effekt demonstriert.

Tabelle 7: Prüfung verschiedener Serotoninagonisten im Zusammenhang mit Morphin oder Naloxon bezüglich der Effekte auf den Serum-Prolactinspiegel männlicher Ratten nach s.c. Applikation

(Zusammenfassende Darstellung der Versuchsreihe von MEITES et al., 1979)

Applizierte Droge(n) (Dosis in mg/kg KGW)	Eigenschaft der Droge bzw. Fragestellung der Untersuchung	Effekt auf Serumprolactin* 1 Std. p.i.
Quipazin (5/10/20)	5-Hydroxytryptamin-(5-HT; Serotonin) Agonist	3/4/5
Quipazin (5) + Mor (5)	Ergänzungseffekt bei Morphinunterdosierung?	3
Quipazin (10) + Mor (5)		4
Quipazin (10) + Naloxon (0,2; 30 Min. nach Qui.)	Abschwächung der Serotonin-Agonistwirkung durch den Opiatantagonisten Naloxon?	3
Quipazin (20) + Naloxon (0,2; 30 Min. nach Qui.)		3
Fluoxetin (10)	5-HT-Reuptake-Inhibitor	1
5-Hydroxytryptophan (30)	5-HT-Vorstufe	1
Fluoxetin (10) + Mor (5)	Ergänzungswirkung durch Kombination unterdosierter Einzeldrogen	2
Fluoxetin (10) + 5-HTP (30)		7
Fluoxetin (10) + 5-HTP (30) + Naloxon (0,2; 30 Min. später)	Abschwächung der synergist. 5-HT-Agonistwirkung durch den Opiatantagonisten	5

* Werte ausgedrückt als Faktor, um den die Abweichung vom Kontrollwert (= 1) erfolgt (Daten gerundet) (n = 8 für jeden Wert)

Außerdem erwirkt 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) in einer Dosierung (100 mg/kg s.c.), die bereits rund 10-fache Basalspiegelanhebung auslöst, zusammen mit Morphin (75 mg/kg s.c., 45 Minuten nach 5-HTP) einen enormen Prolactinpeak, der ca. 2000 % des Ausgangswertes erreicht (DUPONT et al., 1979).

Unfähig, einen Abfall der basalen oder nach 5-HTP beachtlich erhöhten Prolactinsekretion zu provozieren, erzeugt Parachlorophenylalanin (300 mg/kg i.p.), ein Serotoninsynthesehemmer, 48 und 24 Stunden vor Morphin (75 mg/kg s.c.) verabreicht, eine 40-45 %ige Reduktion sowohl des morphininduzierten Prolactinanstiegs, als auch der durch 5-Hydroxytryptophan (100 mg/kg s.c., 45 Minuten vor Morphin) potenzierten Morphinwirkung (DUPONT et al., 1979).

Zu ähnlichem Resultat führen Testserien — wiederum an männlichen Ratten —, in welchen Parachlorophenylalanin (PCPA, 300 mg/kg i.p.), bei ausbleibender Aktion auf den basalen, 72 Stunden vor Morphin (3 mg/kg i.v.) injiziert, deutliche Abnahme des opiatbedingten Prolactinlevel registrieren läßt (KOENIG et al., 1979).

Ein anderer Serotonindepletor, 5,7-Dihydroxytryptamin (5,7-DHT), 7 Tage vor Experimentbeginn in den 3. Ventrikel infundiert (250 µg in 10 µl physiologischer NaCl-Lösung), tut es ihm gleich, vermag jedoch den Morphineffekt komplett zu blockieren. Um etwaige Auswirkungen der

neurotoxischen Substanz auf noradrenerge Neurone möglichst gering zu halten, wurde den Versuchstieren 30 Minuten zuvor Desipramin (25 mg/kg) appliziert, das die aktive Aufnahme von 5,7-DHT durch diese Fasern verhindert. Da sich die Basalprolactinwerte der 5,7-DHT-behandelten Tiere absolut im Normbereich bewegten, scheint eine Zerstörung dopaminerger Nervenfasern, die unweigerlich eine "Enthemmung" hypophysärer Laktotroper nach sich zöge, weitgehend ausgeschlossen. Zudem weist im Anschluß an die Versuche feststellbarer, hypothalamischer Serotoninkonzentrationssturz (um ca. 76 % nach PCPA und 66 % nach 5,7-DHT) auf die 5-HT-Spezifität der Drogenwirkung hin (KOENIG et al., 1979).

Im Kontrast zu anderen Autoren (MEITES et al., 1979; KOENIG et al., 1979; DUPONT et al., 1979) gelingt es VAN LOON et al. (1980) — trotz Verwendung der gleichen Testdrogendosierung — weder mit dem 5-HT-Reuptake-Blokker Fluoxetin (10 mg/kg i.p., simultan mit ß-Endorphin), noch mit Parachlorophenylalanin (300 mg/kg i.p., 48 Stunden vor ß-Endorphin), eine Abweichung des ß-Endorphineffektes (15 bzw. 1 µg intracisternal) auf die Serumprolactinkonzentration männlicher Ratten festzustellen. Während die Aussagekraft der hier ermittelten Daten aufgrund der schon erwähnten, ganz erheblich schwankenden Werte durchaus angezweifelt werden darf, schlägt auch der Versuch von TACHÉ et al. (1979) fehl, eine Antwort

seitens des durch Morphin, Met-Enkephalin oder ß-Endorphin stimulierten Prolactinspiegels auf Parachlorophenylalanin zu erhalten.
Allerdings fällt auf, daß beide Forscherteams (TACHÉ et al., 1979; VAN LOON et al., 1980) das Ausbleiben eines Effektes der 5-HT-aktivitätshemmenden Droge auf den opioidverursachten Prolactinsurge im Zusammenhang mit Opioidverabfolgung in den Liquorraum beschreiben. Damit mag sich ein Hinweis auf einen, von der Opiatapplikationsart abhängigen, unterschiedlichen Angriffsmodus auf die entsprechenden Neurotransmittersysteme andeuten.

Insgesamt könnten

1) der beobachtete Synergismus von Morphin und Drogen, die die Verfügbarkeit von 5-HT erhöhen (Fluoxetin, 5-Hydroxytryptophan),
2) die antagonistische Wirkung von Substanzen, die dieselbe vermindern (Parachlorophenylalanin, 5,7-Dihydroxytryptamin), gegenüber der Opiataktion und
3) die Unfähigkeit von Morphin, den durch 5-HT-Rezeptoragonisten (Quipazin) erzielten Prolactinanstieg zu potenzieren,

eine durch Opioide vermittelte Steigerung der Serotoninaktivität als einen maßgeblichen Mechanismus ihrer Prolactinstimulation in Betracht ziehen lassen. Naloxon entwickelte so gesehen seinen Antagonismus gegenüber Quipazin bzw. Fluoxetin/5-HTP über Verringerung des Serotonin-Turnover.

4.6.3. Pluripotente Drogen

Ebenfalls an männlichen Ratten wurden Auswirkungen der Serotoninrezeptorblocker Metergolin und Cyproheptadin auf basalen und morphinstimulierten Prolactinspiegel getestet (KOENIG et al., 1979). Metergolin (0,1 und 1,0 mg/kg i.p., 120 Minuten vor Morphin) führt in beiden Fällen zu signifikantem Prolactinkonzentrationsabfall, während Cyproheptadin (2,5 mg/kg i.p.; 60 Minuten vor Morphin) — ohne den Basalwert zu beeinflussen — lediglich den Morphineffekt vermindern kann.

Da beiden Drogen zu ihren antiserotoninergen auch dopaminagonistische Eigenschaften — vernehmlich auf Hypophysenebene — zugeschrieben werden, lag das Bestreben auf der Hand zu ergründen, ob die beobachteten Effekte tatsächlich auf spezifischer Serotoninrezeptorblockierung basieren. Dazu verabfolgten KOENIG et al. (1979) männlichen Ratten einmal Metergolin bzw. Cyproheptadin und 120 bzw. 60 Minuten später α-Methyl-p-tyrosin (200 mg/kg i.p.), ein anderes Mal Fluoxetin und simultan Metergolin bzw. in 60 minütigem Abstand Cyproheptadin, und entsprechend zwei bzw. eine Stunde danach 5-Hydroxytryptophan (15 mg/kg i.p.). Die Dekapitation erfolgte 45 Minuten nach der ersten bzw. 30 Minuten nach der zweiten Behandlung. Als Kontrolle dienten neben unbehandelten Tieren solche, die anstelle der 5-HT-Blocker physiologische Kochsalzlösung erhalten hatten.

Beide Serotoninantagonisten demonstrieren eine ca. 70 %ige Reduktion des durch die 5-HT-agonistische Kombination Fluoxetin/5-HTP provozierten Prolactinanstiegs, jedoch — mit Ausnahme der 1,0 mg-Dosis Metergolin, die auch die α-Methyl-p-tyrosin-Wirkung deutlich abschwächt — keinen Einfluß auf die nach Tyrosinhydroxylasehemmung erhöhte Prolactinfreisetzung, und damit zwar 5-HT-blokkierende, jedoch keine dopaminagonistische Aktion. Lediglich der höheren Metergolindosis gestehen KOENIG et al. (1979) eine mögliche Aktivierung hypophysärer Dopaminrezeptoren zu, die der Anlaß für die Beeinträchtigung der prolactinstimulierenden α-Methyl-p-tyrosin-Aktion gewesen sein mag.
Demnach verleiten die Ergebnisse zu der Annahme, daß die geprüften Drogen die hemmende Wirkung auf den morphininduzierten Prolactin-Surge ihren antiserotoninergen Fähigkeiten verdanken, und somit einen Beweis dafür liefern, daß 5-HT eine essentielle Stellung hinsichtlich der morphinbedingten Prolactinausschüttung innehat.

Die Tatsache, daß Cyproheptadin, neben seiner serotonin-anta- und postulierten, dopaminagonistischen, auch noch H_1-rezeptorblockierende Wirkung besitzt, wird von den Autoren zwar vermerkt, eine darauf basierende Beeinflussung des morphinverursachten Prolactinanstiegs jedoch als unwahrscheinlich erachtet. Diese Aussage erscheint nicht ganz einleuchtend, zumal dafür keine Begründung

gebracht, sondern im Gegenteil noch erwähnt wird, daß der H_1-Blocker Diphenhydramin in eigenen Versuchen zu einer Unterdrückung des Morphineffektes geführt hatte.
Nachdem nämlich Histamin im Kreis der an der Prolactinsteuerung beteiligten Überträgerstoffe eine — offenbar besonders in Stress-Situationen bedeutsame — stimulierende Aktion zuerkannt wird (RIVIER et al., 1977; PONTIROLI et al., 1978; WEINER et al., 1978; McCANN et al., 1979; 1980; KRULICH et al., 1979), und zudem Morphin — aufgrund seiner ACTH-, ß-endorphin- und prolactinfreisetzenden Wirkung (ROSSIER et al., 1980) — als "klassischer Stressor" angesehen werden kann (siehe später), dürfte zumindest die Möglichkeit einer dahingehenden Interpretation der cyproheptadinbedingten Abschwächung der Morphinwirkung bestehen. Diese These fände Unterstützung in dem ausbleibenden Effekt der Droge auf den basalen Prolactinspiegel.
In gewissem Gegensatz dazu steht allerdings die Beobachtung von MURAKI et al. (1978), wonach der H_1-Histaminrezeptorblocker Diphenhydramin bei männlichen Ratten, 30 Minuten post iniectionem (10 und 20 mg/kg s.c.), zwar zu leichter Depression des basalen, nicht aber des nach Morphin (20 mg/kg s.c., simultan mit Diphenhydramin) erhöhten Prolactinlevel führt. Dagegen hatte der H_1-Antagonist die Fähigkeit bewiesen, immobilisationsstressinduzierte Prolactinfreisetzung zu blockieren (McCANN et al., 1979), die, wie kürzlich gezeigt werden konnte,

auch durch den Opiatantagonisten Naloxon egalisiert wird (VAN VUGT et al., 1978a).

Probenecid (250 mg/kg i.p., 15 Min. vor ß-Endorphin), eine den Transport vieler organischer Verbindungen hemmende Substanz — in klinischem Gebrauch als Urikosurikum — vermag den ß-endorphininduzierten Prolactinsurge zu potenzieren. Während der kombinierte Effekt durch simultane Naloxoninjektion (2,5 mg/kg i.p.) abgeschwächt wird, verhindert ihn Apomorphin (0,3 mg/kg s.c.) völlig (VAN LOON et al., 1980).
Ob die Probenecidwirkung, ähnlich wie bei Aminosäuremetaboliten beobachtet, auf Verminderung des ß-Endorphintransportes aus dem Gehirn, und damit erhöhter Opioidverfügbarkeit am Wirkungsort, oder auf Beeinflussung des Monoaminabbaues fußt, läßt sich augenblicklich nicht sagen.

4.6.4. Résumée

Nach diesen Resultaten besteht also die Möglichkeit, daß die prolactinspiegelerhöhende Wirkung endogener Opiate auf einer Reduktion der Dopamin- oder Steigerung der Serotoninaktivität — d.h. auf der Aufhebung hemmenden oder der Förderung stimulierenden Neurotransmittereinflusses — im Hypothalamus, oder auf beiden Mechanismen beruht, wobei auch anderen Überträgerstoffen, wie Histamin — wenigstens unter bestimmten Gegebenheiten — eine Rolle zufallen könnte.

Eine Interpretation der sehr zahlreichen Experimente, die der Aufklärung von Opioidangriffspunkten bei der Prolactinkontrolle über Testung diverser, anta- wie agonistisch die Aktion verschiedener Neurotransmitter beeinflussender Drogen näher zu kommen versuchen, erscheint außerordentlich problematisch.
In den Tabellen 8 und 9 wurde der Versuch gemacht, die bisher im Rahmen derartiger Arbeiten erhaltenen Anhaltspunkte — unter Berücksichtigung auch der abweichenden Daten — zusammenfassend in schematischer Form darzustellen.
Warnen einerseits die oft konträren Ergebnisse vor übereilten Schlüssen, schwächen andererseits die beinahe für jede Droge, wenn nicht bewiesenen, so postulierten Nebenwirkungen auf andere Neurotransmitter bzw. deren Rezeptoren die Aussagekraft einzelner Resultate ab, so

Tabelle 8: Zusammenfassende, schematische Darstellung der Resultate von Prüfungen dopaminanta- wie -agonistisch wirksamer Drogen hinsichtlich einer Einflußnahme auf die opioid-induzierte Prolactinerhöhung

	Testdroge	Eigenschaft	Testdroge in effektiver Dosierung		Beeinflußbarkeit der Testdrogenwirkung auf Prolactin durch Applikation von	
			Einfluß auf basales Prolactin	Einfluß auf die Prolactinwirkung von effektiv dosierten Opiaten	Opiaten	Naloxon
DA-Agonisten und Drogen, die die DA-Verfügbarkeit erhöhen	L-Dopa	Vorstufe	—	●	0	0
	Piribedil	Rezeptor-Agonist	—	●	0	
	Apomorphin	Rezeptor-Agonist	—	●	0	
	Bromocriptin	Rezeptor-Agonist	—	●		
	Pargylin	MAO-Hemmer		—		
	Benztropin	Reuptake-Inhibitor		0		
	Amineptin	Reuptake-Inhibitor	—	●	●	
DA-Antag.u.-Verfügbark.hemmende Drogen	Haloperidol	Rezeptor-Blocker	+	0	00	0 / (—)
	α-Methyl-p-tyrosin	Tyrosinhydroxylase-Hemmer	+	0 / +	00	

● Block; 0 ohne sign. Effekt; — Verminderung; + Verstärkung; 00 Synergismus bei Unterdosierung eines oder beider Komponenten

Tabelle 9: Zusammenfassende, schematische Darstellung der Resultate von Prüfungen serotoninanta- wie -agonistisch wirksamer und einiger anderer Drogen hinsichtlich einer Einflußnahme auf die opioidinduzierte Prolactinerhöhung

	Testdroge	Eigenschaft	Testdroge in effektiver Dosierung		Beeinflußbarkeit der Testdrogenwirkung auf Prolactin durch Applikation von	
			Einfluß auf basales Prolactin	Einfluß auf die Prolactinwirkung von effektiv dosierten Opiaten	Opiaten	Naloxon
5-HT-Agonisten und Drogen, die die 5-HT-Verfügbarkeit erhöhen	5-Hydroxytryptophan	Vorstufe	+	+	00	—
	Quipazin	Rezeptor-Agonist	+		0	—
	Fluoxetin	Reuptake-Inhibitor	+	0	00	—
5-HT-Antagonisten u. Drogen, die die 5-HT-Verfügbarkeit hemmen	Parachlorophenylalanin	Synthese-Hemmer	0	—/0		
	Metergolin	Rezeptor-Blocker	—	—		
	Cyproheptadin	Rezeptor-Blocker	0	—		
	5,7-Dihydroxytryptamin	Depletor	0	•		
andere Drogen	Probenecid	Transport-Hemmer *	0	+		—
	Diphenhydramin	H_1-Rez.blocker (Histamin)	—	0/—		

* Hemmung des Transportes vieler organischer Verbindungen

Symbole wie in Tabelle 8

daß erst mit zunehmender Anzahl derartiger Pilotprogramme — begleitet u.a. von Konzentrationsmessungen, Rezeptorbindungs- und Turnoverstudien, wie in-vivo- und in-vitro-Untersuchungen, die das Problem von den verschiedensten Richtungen angehen — sich allmählich eine Vorstellung der tatsächlichen Vorgänge herauskristallisieren kann.

5. SUCHE NACH DER PHYSIOLOGISCHEN BEDEUTUNG ENDOGENER OPIATE BEI DER REGULATION DER PROLACTINFREISETZUNG

Angesichts der vielen Hinweise auf eine Beteiligung endogener Opiate an der Steuerung der Prolactinsekretion war es naheliegend, Experimente unter Bedingungen vorzunehmen, die physiologischerweise mit einer vermehrten Prolactinausschüttung der Hypophyse verknüpft sind. Auf dieser Basis sollte es möglich sein, nicht nur die Bestätigung für eine Opioideinflußnahme, sondern auch weitere Aufklärung über einschlägige Kontrollmechanismen im Rahmen der Prolactinregulation zu erhalten.

Adäquate Stimuli für die Prolactinfreisetzung stellen einmal Saugen und Melken dar, wobei die temporäre Prolactinspiegelanhebung bei den einzelnen Spezies nach zeitlich variierendem Muster verläuft. Zum anderen spielen für die Prolactinabgabe im Zusammenhang mit der Laktation weitere taktile, olfaktorische, akustische oder visuelle Eindrücke, sowie, unabhängig davon, Stressfaktoren der verschiedensten Art eine bedeutsame Rolle (u.a. insulininduzierte Hypoglykämie).

Schließlich existieren gewisse Rhythmen für die Prolactinentladung, wie bei männlichen Ratten ein durch die Zirbeldrüse beeinflußter Tag-Nacht-Zyklus mit nächtlichem Prolactin-Surge, beim Menschen ein mit REM-Schlafperioden verbundener Freisetzungstakt, bei Wiederkäuern ein von der Tageslänge abhängiger, saisonaler Rhythmus, bei Primaten ein vom Lebensalter geprägter, geschlechtsunter-

schiedlicher Basalspiegel-Shift. Der preovulatorische Plasma-Prolactinanstieg, deutlich sichtbar bei der Ratte, jedoch auch beim Menschen und verschiedenen anderen Säugern beschrieben, wird durch die vorangehende Östrogenspiegelerhöhung (Vgl. Abb. 30) induziert. Bei der Frau wird zudem während der Lutealphase des Menstruationszyklus eine leichte Prolactinerhöhung im Plasma registriert.

5.1. SAUGEN UND MELKEN

Obwohl die reaktive Prolactinausschüttung auf Saugen vermutlich auf einen gemeinsamen oder weitgehend ähnlichen Mechanismus zurückgeht, weist das Freisetzungsmuster — offenbar in Verknüpfung mit den verschiedenen Sauggewohnheiten — deutliche Speziesunterschiede auf.

Bei der Ratte erzeugt nach achtstündigem Entzug des Wurfes Saugen umgehend einen ausgeprägten Prolactinanstieg, der solange in etwa konstanter Höhe verweilt, bis der Stimulus wegfällt. Ersetzt man gesättigte durch andere, hungrige Junge, wird der Spiegel weiter aufrechterhalten.

Bei Wiederkäuern stellt sich innerhalb von 1-2 Minuten nach Beginn des Melkens eine rasche Prolactinerhöhung ein, die bereits 5 Minuten später ihren Gipfel erreicht, um bald darauf abzusinken. Eine Ausnahme demonstriert die Ziege, deren Hormonspiegel auch nach Abbrechen des Saugens noch deutlich angehoben bleibt, wo also die initiale Aktivierung der Zitzenrezeptoren — diese zu Nachentladungen veranlassend — länger andauernde Prolactinabgabe induziert. Möglicherweise soll dadurch sichergestellt werden, daß die Milchdrüse laktierender Tiere über mehrere Stunden am Tag dem Einfluß hoher Prolactinkonzentrationen ausgesetzt wird. Im Gegensatz zur Ratte läßt sich jedoch bei der Ziege keine Korrelation zwischen Melkdauer und freigesetzter Prolactinmenge finden (HART, 1974; 1975; GROSVENOR et al., 1974; TINDAL, 1978).

Den Effekt des Opiatantagonisten Naloxon auf Ausmaß und Verlauf der durch Saugen induzierten Prolactinentladung prüften FERLAND et al. (1978) an weiblichen Ratten, die sie 48 Stunden post partum mit einer Jugularis-Dauerkanüle versahen. Zwei Tage später wurde den Tieren, fünf Minuten vor Rückgabe der Jungen, die sechs Stunden (8.00 - 14.00 Uhr) lang von ihren Müttern getrennt worden waren, Naloxon (5 mg/kg i.v.) appliziert. Jeweils im Anschluß an die Blutentnahme — 5 Minuten ante, wie 5, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 Minuten post iniectionem — erhielten die Ratten zur Vermeidung extrazellulärer Volumenänderungen 0,7 ml heparinisierte, physiologische NaCl-Lösung verabreicht.

Naloxon demonstriert eine im Vergleich zu Kontrolltieren 50 - 95 %ige Hemmung des Prolactinanstiegs, die bis zum letzten, untersuchten Zeitintervall (90 Minuten p.i.) zu verfolgen ist (Abb. 19). In einem entsprechend durchgeführten Test, wo Naloxon (5 mg/kg) 10 Minuten vor, 45 und 90 Minuten nach Ansetzen der Jungen injiziert wurde, liegt die Plasma-Prolactinreduktion nach 2 Stunden noch bei rund 80 %.

Die Tatsache, daß der Opiatantagonist in ihren Experimenten keine vollständige Blockierung der Prolactinerhöhung erzielt, führen FERLAND et al. (1978) auf die —angesichts der starken, durch Saugen ausgelösten Stimulation— relativ niedrige Naloxondosis zurück.

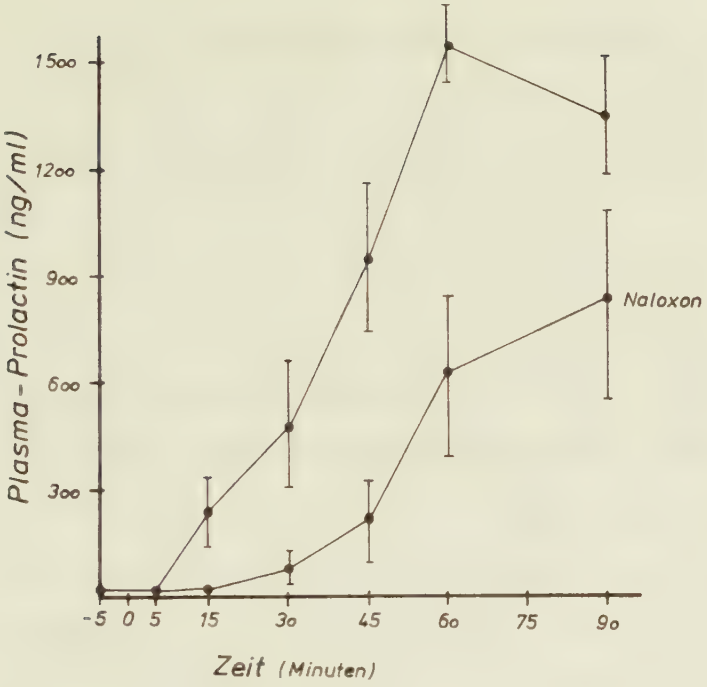


Abb. 19: Hemmender Effekt von Naloxon (5 mg/kg i.v.), appliziert 5 Minuten (-5) vor Ansetzen der Jungen (Zeit 0), auf den durch Saugen induzierten Prolactinanstieg weiblicher Ratten im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren. (nach FERLAND et al., 1978)

Die nämliche Begründung finden HART et al. (1978) dafür, daß im Rahmen ihrer Untersuchungen an 6 laktierenden Ziegen keinerlei Reaktion des durch Melken angeregten Prolactinspiegels auf Naloxon (1,2 mg/Ziege i.v.) zu vermerken ist, nachdem die gleiche Dosis sowohl die Basalhormonkonzentration, als auch den morphininduzierten (10 mg/Ziege)

Prolactinanstieg signifikant senken konnte. Allerdings ziehen sie als Alternative in Betracht, daß endogene Opiate bei dieser Tierart eventuell nur in die Steuerung und Aufrechterhaltung der basalen Hormonfreisetzung eingreifen.

In diesem Zusammenhang sei auf eine interessante Beobachtung von MEITES und VAN VUGT (MEITES et al., 1979a; VAN VUGT et al., 1980) hingewiesen. Durch carcinogene Chemikalien induzierte Mammatumoren weiblicher Ratten, die offenbar in ihrem Wachstum prolactinabhängig sind, können durch Naloxon- wie Naltrexonbehandlung, bei zwei- bis dreimal täglich erfolgender Injektion, in ihrer Ausdehnung gestoppt werden. Wie von den Autoren vermutet, scheint dieser Effekt auf der prolactinsekretionshemmenden Wirkung der Opiatantagonisten zu basieren. Möglicherweise läßt sich daraus eine Beteiligung endogener Opiate am Wachstum dieser Tumoren ableiten.

5.2. PINEAL GESTEUERTER PROLACTINSEKRETIONSRHYTHMUS — ARGININ-VASOTOCIN —

Bei männlichen Ratten ist seit längerer Zeit ein pineal gelenkter Prolactinsekretionsrhythmus mit nächtlichem, ein bis zwei Stunden anhaltendem Surge bekannt, der durch Epiphysektomie ausgeschaltet werden kann (RØNNE-KLIEV et al., 1973). Nun soll einerseits ein aus der Zirbeldrüse von Säugern isoliertes Nonapeptid, Arginin-Vasotocin (AVT), gewisse prolactinmodulierende Fähigkeiten besitzen, andrerseits greifen endogene Opiate offenbar an vielen Stellen in die Prolactinkontrolle ein.

Zur Ermittlung eines eventuellen Zusammenwirkens von AVT und endogenen Opiaten, fanden Versuche statt, in denen 90 männlichen Ratten der Opiatantagonist Naloxon (0,2 mg/kg s.c.), und 5 Minuten darauf — parallel zu weiteren 90, nicht mit Naloxon vorbehandelten Tieren — entweder AVT (5 µg s.c.) oder Placebo appliziert wurden. Unmittelbar vor AVT/Placebo, sowie 15, 30, 45 und 60 Minuten danach, erfolgte die Plasma-Prolactin-, -LH-, und-FSH-Analyse an je 10 Tieren jeder Behandlungsgruppe.
AVT bewirkt signifikanten Prolactinanstieg 15 Minuten, abgelöst von ebenso deutlichem Abfall 45 Minuten post iectionem, während Naloxon beide AVT-Effekte völlig unterdrückt. Dagegen bleibt vonseiten der Gonadotropine in dieser Testserie auf AVT und/oder Naloxon eine registrierbare Reaktion aus (VAUGHAN et al., 1980).

Lassen die Resultate momentan auch noch keine eindeutige Interpretation zu, ergeben sich daraus doch neue Aspekte. Seit längerer Zeit wird der Zirbel — kraft prowie antigonadotroper Eigenschaften ihrer "Hormone" — modulierende Einflußnahme auf Sexualfunktionen im Zusammenhang mit jahreszeitlichem Wandel der täglichen Hell-Dunkel-Perioden zugeschrieben. Haltung von Tieren in kontinuierlichem Licht kommt "unblutiger Pinealektomie" gleich, da die Aktivierung der Drüse durch Dunkelheit erfolgen soll. Dementsprechend findet man bei blinden Hamstern Regression der Gonaden und Verzögerung der sexuellen Reife, die durch operative Entfernung der Epiphyse verhindert werden (REITER, 1974; REITER et al., 1975; EBELS et al., 1975; SHARP et al., 1978).
Neben dem Hinweis auf eventuelle, regulierende Mitwirkung von AVT am Auftreten von jahreszeitlichen wie täglichen Rhythmen im Prolactinsekretionsmuster, läßt die naloxoninduzierte Unterdrückung des biphasischen AVT-Effektes auf die Prolactinfreisetzung die Vermutung zu, Opiatrezeptoren bzw. deren endogene Liganden könnten an der Vermittlung pineal gesteuerter Vorgänge teilhaben.

An dieser Stelle sei erwähnt, daß AVT nach systemischer wie intracerebroventrikulärer Verabfolgung an weibliche Ratten zur Inhibition des preovulatorischen LH-Peak führt, wohingegen der Plasma-LH-Spiegel ovariektomierter Weibchen unbeeinflußt bleibt (McCANN et al., 1979). Interessant wäre demnach festzustellen, ob Naloxon auch den AVT-induzierten Block des preovulatorischen LH-Gipfels aufzuheben vermag.

5.3. REM-ASSOZIIERTER PROLACTINANSTIEG BEIM MENSCHEN

Eine 24-Stunden-Analyse des Plasma-Prolactinverlaufs beim Menschen zeigt, daß das Hormon einem pulsartigen Freisetzungstakt unterliegt. Während des Schlafens wird ein physiologischer Prolactinanstieg beobachtet, der nicht vom Tag-Nacht-Rhythmus, sondern vom Schlaf selbst, und zwar vom Auftreten von REM-(rapid eye movement) Perioden, abhängig und starken individuellen Schwankungen in Muster und Höhe ausgeliefert ist. Dabei lassen sich häufige, unregelmäßige, in ihrer Amplitude wachsende Peaks aufzeichnen — asynchron zu den Oszillationen anderer Hypophysenhormone —, welche zu einer schrittweisen, mit Non-REM-Intervallen koinzidierenden Erhöhung des Plasma-Prolactin führen, die kurz vor dem Erwachen die höchsten Werte erreicht. Nachdem Hemmung der Prolactinfreisetzung durch Applikation des Ergolinderivates Bromocriptin (Dopaminagonist) weder Einleitung noch Anzahl der REM-Episoden beeinträchtigt, scheint Prolactin für die eigentliche Regulation des Schlafes, an der serotoninerge wie dopaminerge Mechanismen teilhaben, nicht ausschlaggebend zu sein (EHARA et al., 1973; PARKER et al., 1974; DEL POZO et al., 1979).

Eine etwaige Beteiligung endogener Opiate an der Ausprägung des Prolactinsekretionsmusters während des Schlafes prüften MARTIN et al. (1979) durch Experimente an fünf Frauen (21 - 28 Jahre), alle im frühen Follikelstadium des Men-

struationszyklus, die sich an zwei Nächten über je sechs Stunden Schlafdauer (24.00 - 6.00 Uhr) einer EEG-Kontrolle zur Registrierung der Schlafstadien unterzogen. In einer Nacht (Kontrolle) wurde jeder Versuchsperson physiologiche NaCl-Lösung infundiert, während in der zweiten der Infusion Naloxon zugegeben wurde (0,8 mg/kg/Stunde). Die Blutentnahme zur Prolactinbestimmung (RIA) erfolgte alle 20-30 Minuten.
Der Opiatantagonist läßt in diesen Untersuchungen weder signifikante Abweichungen vom schlafassoziierten Prolactinspiegelverlauf, noch von totaler Schlafdauer und prozentualem Auftreten der verschiedenen Stadien erkennen.

Eine Bestätigung dafür, daß Naloxon ohne Einfluß auf den Schlaf selbst ist, liefern ähnlich durchgeführte Experimente von DUPONT et al. (1979), die allerdings eine eindeutige (45-95 %), in ihrem Grad dosisabhängige Hemmung des nächtlichen Prolactinanstiegs verzeichnen lassen. Dabei ist in erster Linie zu berücksichtigen, daß sich für diese Testserie sechs Frauen in der Postmenopause zur Verfügung stellten, während die Versuchsbedingungen im Vergleich zu denjenigen von MARTIN et al. (1979) kaum Anlaß für derartig variierende Resultate bieten dürften (Infusionsdauer 23.00 - 7.00 Uhr; Naloxondosis 0,5 sowie 1,0 mg/kg/Stunde).
Demnach bestünde die Möglichkeit, daß die von DUPONT beobachtete Naloxonwirkung auf die weitgehende Abwesenheit

von Östrogenen, und damit von potenten, antidopaminerg wirksamen Agentien zurückgeht, zumal bei Frauen mit zunehmendem Alter, parallel zur Reduktion der ovariellen Steroidogenese, ein deutlicher Abfall des Prolactinbasalspiegels zu registrieren ist. So weisen Fünfzigjährige nur noch etwa die Hälfte bis zwei Drittel der bei Zwanzigjährigen meßbaren Serumwerte auf (EHARA et al., 1973; DEL POZO et al., 1977; 1979).

5.4. STRESSINDUZIERTE PROLACTINSEKRETION

Im Gefolge der unterschiedlichsten Arten von Stress konnte bisher erhöhte Prolactinausschüttung bei Mensch und Tier beobachtet werden. Dabei reicht die Palette entsprechender Stimuli von Schmerzreaktionen, extremer Hitze oder Kälte, Operationen, ja einfacher Venenpunktion, Immobilisation, äthergeschwängerter Luft, Nikotininjektion, Hypoglykämie, bis hin zu ganz unspezifischen, stark vom jeweiligen Individuum bzw. dessen Prägung abhängigen, von Stimmungslage und Gemütszustand gelenkten Faktoren. Daneben unterstehen Auftreten wie Intensität einer Prolactinantwort auf Stress einer Reihe anderer Einflüsse, wie Geschlecht — Frauen reagieren heftiger als Männer — oder aktuelle, hormonelle Situation. So bleibt in Anwesenheit bereits hoher Prolactinspiegel, wie beispielsweise bei weiblichen Ratten am Nachmittag des Proöstrus oder auch im Anschluß an Östrogenbehandlung, ein weiterer Anstieg aus.

Aufbauend auf die Tatsache, daß die verschiedensten Stresseinwirkungen vermehrte Prolactinsekretion verzeichnen lassen, befaßten sich einige Arbeitsgruppen mit der Ermittlung der Plasma-Prolactinwerte (RIA) männlicher Ratten, die, nach unmittelbar zuvor erfolgender Injektion von Naloxon (0,2 mg/kg i.p.) bzw. physiologischer NaCl-Lösung, jeweils einer von drei Stressarten ausgesetzt wurden:

1) Blutentnahme mittels Orbitalsinuspunktion unter Ätheranästhesie im Vergleich zur Blutgewinnung nach rascher Dekapitation;
2) Auferlegung von Zwangsmaßnahmen zur Immobilisation der Tiere für 30 Minuten;
3) Hitzestress (40°C über 30 Minuten).

Abbildung 20 veranschaulicht, daß Prolactin nach Orbitalsinuspunktion unter Äther deutlich höhere Werte erreicht als nach rascher Dekapitation, wobei vorherige Naloxongabe in beiden Fällen eine signifikante Reduktion der Plasmaprolactinkonzentration erzielt. Durch Zwangsmaßnahmen oder Hitzestress ausgelöster Prolactinanstieg läßt sich durch Naloxon ganz bzw. zum Teil verhindern (VAN VUGT et al., 1978a; MEITES et al., 1979).
Auch durch Footshocks (über 10 Minuten; 12/Minute ; 1 mA) verursachter Prolactin-Surge wird bei männlichen Ratten mit Naltrexonapplikation (1 mg/kg i.p.), 10 Minuten vor Anwendung der Stromstöße, zu rund 60 % gehemmt (GRANDISON et al., 1977).

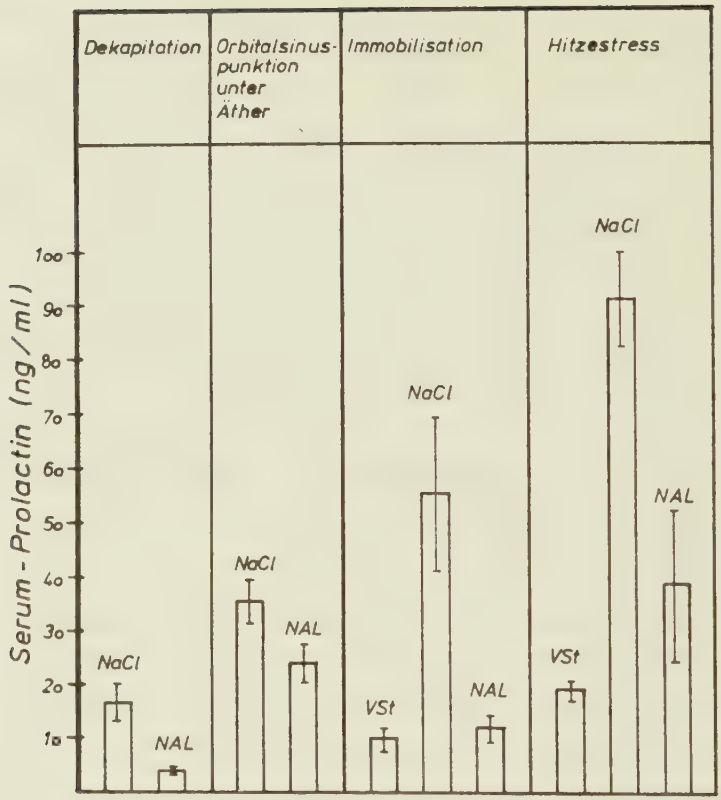


Abb. 20: Auswirkung von Naloxon (0,2 mg/kg i.p.) auf die stressinduzierte Prolactinfreisetzung männlicher Ratten im Vergleich zu Kontrolltieren.

VSt = Ausgangsprolactinkonzentration im Plasma vor Stress;

NaCl = mittlere Plasma-Prolactinkonzentration nach Stress bei Kontrolltieren;

NAL = mittlere Plasma-Prolactinkonzentration nach Stress bei Naloxonvorbehandlung

(n = 10 für jede Säule)

(nach Angaben von VAN VUGT et al., 1978a und MEITES et al., 1979)

Inwieweit Naloxon durch Ätherstress provozierten Prolactin-Surge zu egalisieren vermag, testeten FERLAND et al. (1978) und SHIN (1978) an männlichen Ratten. Die Versuchsanordnung beider Arbeitsgruppen gibt vergleichend Tabelle 10 wieder, die ermittelten Prolactinspiegelverlaufskurven demonstriert Abbildung 21.

Trotz Durchführung der Experimente unter teilweise sehr unterschiedlichen Bedingungen zeigen die Resultate gute Übereinstimmung. In beiden Fällen läßt sich bei den Kontrolltieren rasche Stimulation der Prolactinsekretion durch Äther feststellen, mit Auftreten eines maximalen Effektes nach ca. 5 Minuten und Rückkehr zu Basalwerten innerhalb von 20 - 30 Minuten. Auch die Kurven der Versuchstiergruppen zeichnen ein sehr ähnliches Muster, was darauf hinweist, daß 0,3 mg/kg Naloxon, 20 Minuten vor dem Stress i.v. verabfolgt, volle Wirksamkeit entfalten, und die hohe Dosierung von 10 mg/kg —nur teilweise der langsameren Erlangung des erforderlichen Blutspiegels nach subcutaner Verabreichung, wie dem späteren Applikationszeitpunkt Rechnung tragend— keinen zusätzlichen Effekt erbringt.

Dazu kommt als weiterer Gesichtspunkt, daß SHIN (1978) 40 Blutproben á 70 µl innerhalb von 80 Minuten entnehmen kann, ohne gleichzeitigen Volumenersatz zu leisten, wobei sich keine Beeinträchtigung der Resultate bemerkbar macht. Zudem ändert die doppelte Ätherexpositionszeit (4 im Gegensatz zu 2 Minuten) nichts am Verlauf des Kurvenbildes.

Tabelle 10: Vergleichende Darstellung der von FERLAND et al. (1978) und SHIN (1978) gewählten Versuchsanordnung zur Prüfung des Naloxoneinflusses auf ätherstressinduzierten Prolactinanstieg bei männlichen Ratten:

	FERLAND et al.	SHIN
Zahl der Versuchs- bzw. Kontrolltiere	8 - 10 (frei beweglich)	6 (frei beweglich)
Naloxondosis	10 mg/kg	0,3 mg/kg
Zeitpunkt und Art der Applikation	10 Min. vor Stress s.c.	20 Min. vor Stress i.v.
Art der Blutprobengewinnung	Jugularisdauerkanüle	Atrialkanüle
Häufigkeit der Blutentnahme	-10; 0*; 5, 10, 15, 20, 30 Min.	alle 2 Minuten, 40 Min. vor bis 40 Min. nach Stress
Blutmenge je Probe	0,7 ml	70 µl
Volumenersatz	0,7 ml heparinisierte physiologische NaCl-Lsg. je Blutentnahme	keiner
Dauer des Ätherstress (Aufenthalt in Ätherkammer)	1 - 2 Minuten	4 Minuten

* 0 = Zeit unmittelbar vor Beginn der Ätherexposition

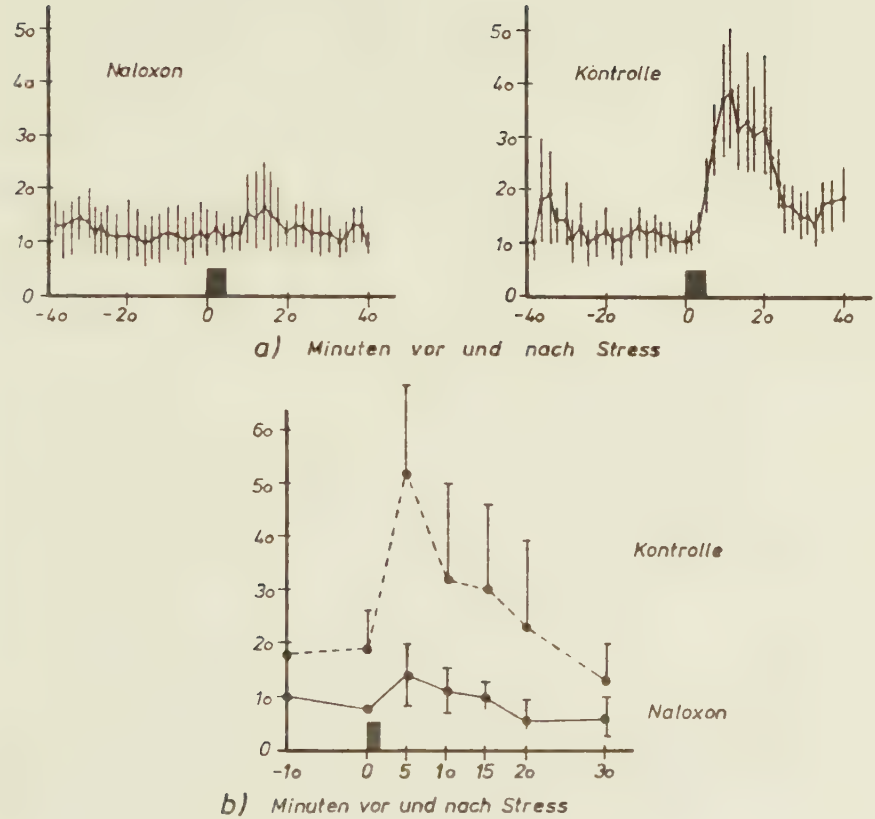


Abb. 21: Auswirkung von Naloxon auf den durch Ätherexposition (Beginn zur Zeit 0) induzierten Prolactinanstieg männlicher Ratten im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren (Vgl. Tabelle 10)

a) Prolactinspiegelverlaufskurven nach SHIN (1978)

b) Prolactinspiegelverlaufskurven nach FERLAND et al. (1978)

Demgemäß hatten CHI et al. (1978) in ähnlichen Experimenten, in denen sie die Auswirkungen der Ätherstressdauer (2 bzw. 40 Minuten) auf den Prolactinspiegel männlicher Ratten testeten, gefunden, daß das Auftreten eines sehr raschen Prolactin-Surge stets durch eine Rückkehr zum Basallevel innerhalb von 15 Minuten abgelöst wird.

5.5. STRESS, ACTH, ß-ENDORPHIN UND PROLACTIN

Lange bevor Prolactinfreisetzung im Zusammenhang mit akutem Stress bekannt wurde, war ACTH als ein Hormon identifiziert worden, das in Beantwortung derartiger Stimuli von der Hypophyse ausgeschüttet wird. Bald nach Entdeckung der endogenen Opiate gelang zudem der Nachweis, daß ß-Endorphin nicht nur in den Kreis der Substanzen einzubeziehen ist, die in solchen Situationen vermehrt in der Zirkulation erscheinen (ROSSIER et al., 1977a; GUILLEMIN et al., 1977), sondern daß es dann in nahezu äquimolarer Menge zusammen mit ACTH, das auf das gleiche Prohormon (Proopicortin) zurückgeht, vom Hypophysenvorderlappen entlassen wird.

Entsprechend zeigte sich, daß im Gefolge der verschiedensten Stresseinflüsse eine Entleerung adenohypophysärer ß-Endorphinspeicher, wie auch eine Änderung der Opioidkonzentrationen verschiedener Hirnregionen zu verzeichnen ist, wobei die Rolle aktivierter, opioiderger Prinzipien augenblicklich noch unklar ist. Nichtsdestoweniger weisen heute zahllose Untersuchungen auf eine zentrale Bedeutung endogener Opiate im Rahmen der globalen Stressantwort des Organismus hin. Dabei mögen diese Stoffe zusammen mit ACTH als Bestandteil eines weitverzweigten, neuroendokrinen Systems agieren, das über Angriffspunkte in Gehirn und peripheren Zielorganen für die Entfaltung stressreaktiven Anpassungsverhaltens ebenso verantwortlich zeichnet, wie für die

koordinierte Sekretion von Hormonen in derartigen Situationen (GUILLEMIN et al., 1977; ROSSIER et al., 1977a; 1979a; MADDEN et al., 1977; COX et al., 1978; KRIEGER et al., 1979b; RAYMOND et al., 1979; AKIL et al., 1979; DANTZER et al., 1979; CHENG et al., 1979a; 1980; KOSTERLITZ, 1979; BAIZMAN et al., 1979; AMIR et al., 1980; FADEN et al., 1980; RILEY et al., 1980; SIMANTOV et al., 1980).

So sahen sich ROSSIER et al. (1980a) veranlaßt, durch Untersuchungen an männlichen Ratten festzustellen, inwieweit eine Verknüpfung von ß-Endorphin- und ACTH-Abgabe einerseits, und Prolactinspiegelerhöhung andrerseits gegeben ist. Dazu verglichen sie stress- oder morphininduzierte Sekretionsrate der Hormone, wie deren Beeinflussung durch vorangegangene Dexamethason- oder Naloxonbehandlung. Tabelle 11 gibt einen Überblick über die gewählte Versuchsanordnung, die Abbildungen 22 und 23 fassen die Ergebnisse zusammen.
Aus den Experimenten läßt sich zunächst ableiten, daß

- ß-Endorphin unter Stress-Situationen eine 3-4 fache Erhöhung seines Blutspiegels durchläuft, mit einem Maximalzuwachs 15 Minuten nach Einsetzen des Stimulus, und auch auf Morphinapplikation mit signifikantem Anstieg reagiert.
- Dexamethasonvorbehandlung die ß-Endorphin-Konzentration nach Stress, wie nach Morphininjektion auf Basalniveau hält, während sie in Ruhe noch zu einer Unterschreitung desselben führt.

Tabelle 11: Darstellung der Versuchsanordnung zur Prüfung des Einflusses von Dexamethason-, Morphin- oder Naloxonvorbehandlung auf die basale und stressinduzierte ß-Endorphin-, ACTH- und Prolactinfreisetzung männlicher Ratten (nach ROSSIER et al., 1980a)

Ratten ♂	s.c. Applikation (mg/kg)		Stressdauer*	Blutentnahme		Bestimmung im Serum (RIA)
	1. Vorbehandlung (Zeit vor Exp.beginn)	2. Vorbehandlung		Art	Zeitpunkt	
5	Dexamethason 0,4 (24 h)+ 0,2 (2 h)		30 Minuten	Jugularisdauerkatheter	0;5;10;15; 30;150 Min. nach Stressbeginn **	ß-Endorphin
4						
6	Dexamethason 0,4 (24 h)+ 0,2 (2 h)	Morphinsulfat (20)		Dekapitation	15 Min. nach der 2. Vorbehandlung	ß-Endorphin ACTH Prolactin
6		phys.NaCl-Lösung				
6	phys. NaCl-Lösung (24 h + 2 h)	Morphinsulfat (20)				
6		phys.NaCl-Lösung				
5	Dexamethason 0,4 (24 h)+ 0,2 (2 h)			Dekapitation	15 Min. nach Stressbeginn	ß-Endorphin Prolactin
5			15 Minuten			
5	phys.NaCl-Lösung (24 h + 2 h)					
5						
5	Naloxon 10 (5 Min.)			Dekapitation	20 Min. nach Vorbehandlung	ß-Endorphin Prolactin
5			15 Minuten			
5	phys. NaCl-Lösung (5 Min.)					
5						

* elektrische Footshocks (12/Min., Dauer je ca. 1 Sekunde, 1 mA)

** 0,4 µl je Probe, bei gleichzeitigem Volumenersatz (heparinisierte, phys. NaCl-Lösung)

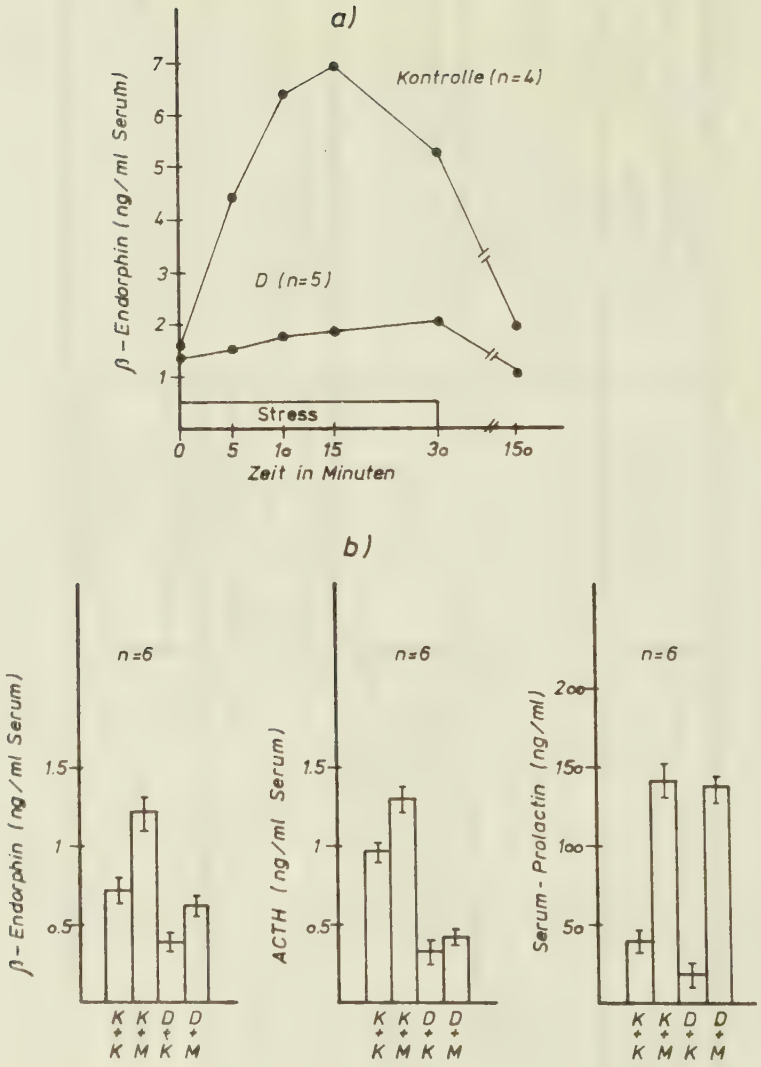


Abb. 22: Experimente an männlichen Ratten (Vgl. Tabelle 11) (nach ROSSIER et al., 1980a)

a) Auswirkung von Stress auf den ß-Endorphin-Blutspiegel nach Dexamethasonvorbehandlung;

b) Effekt von Dexamethason und/oder Morphin auf ß-Endorphin-, ACTH- und Prolactinblutspiegel;

D = Dexamethasonvorbehandlung; M = Morphinsulfat;
N = Naloxon; F = Footshocks über 15 Minuten (Stress);
K = physiol. NaCl-Lösung

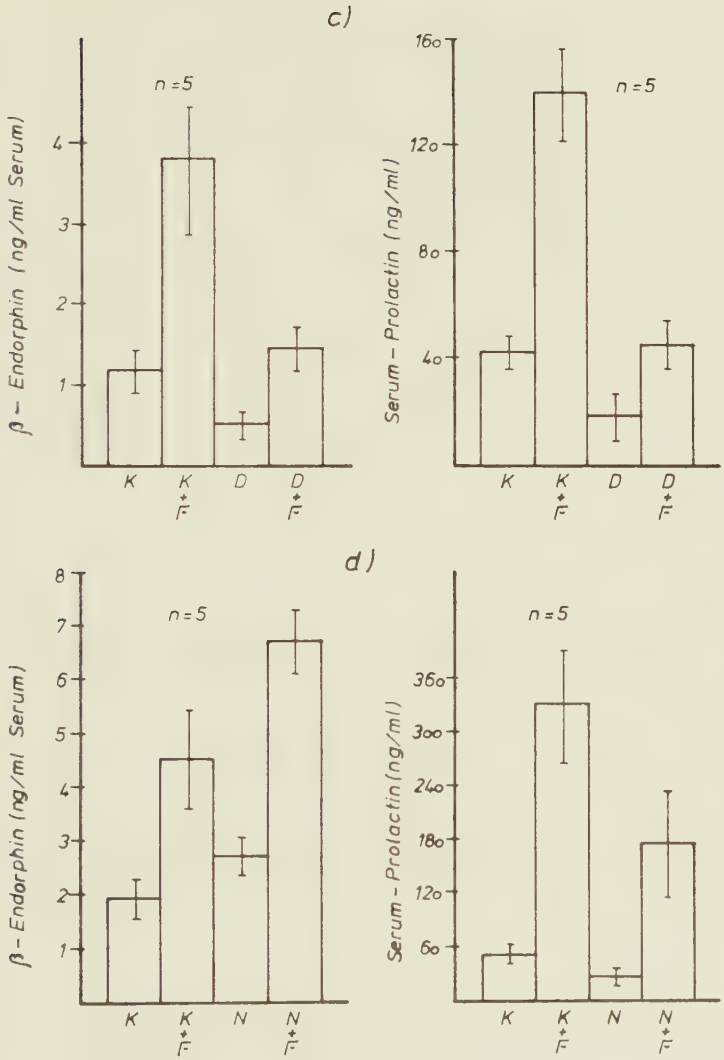


Abb. 23: Experimente an männlichen Ratten (Vgl. Tabelle 11) (nach ROSSIER et al., 1980a)

a) Auswirkung von Stress und/oder Dexamethason auf ß-Endorphin- und Prolactinblutspiegel;

b) Auswirkung von Stress und/oder Naloxon auf ß-Endorphin- und Prolactinblutspiegel;

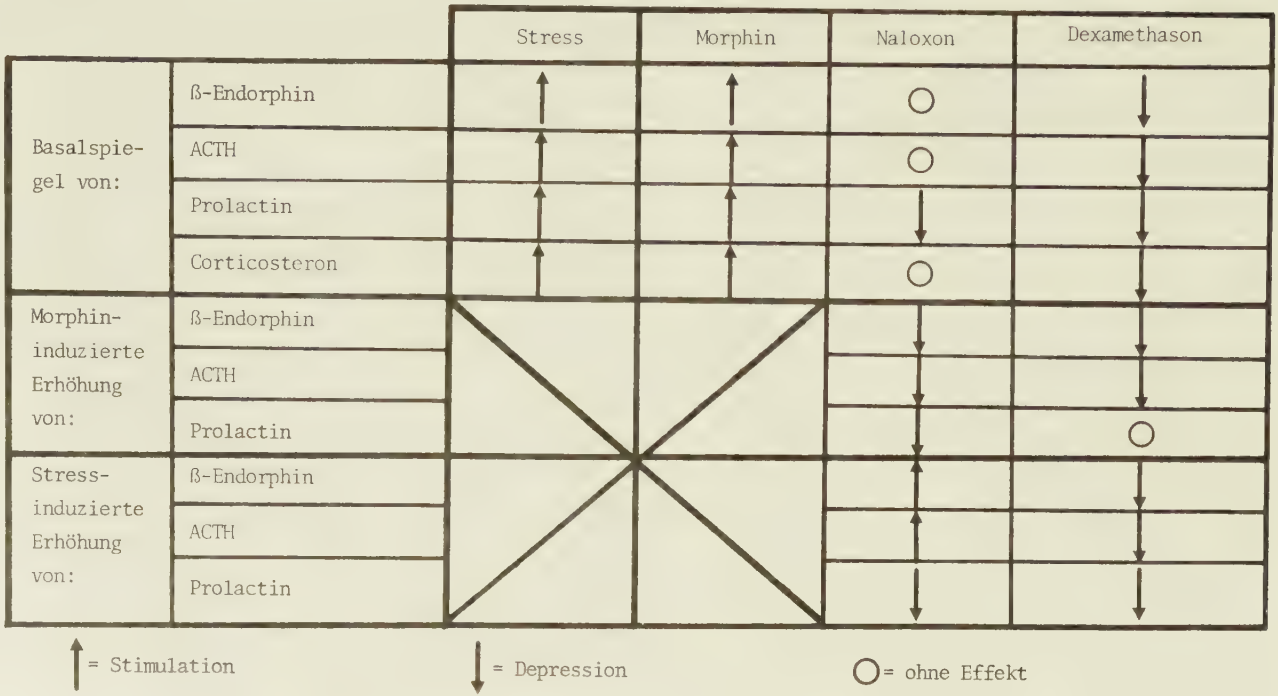
D = Dexamethasonvorbehandlung; M = Morphinsulfat;
N = Naloxon; F = Footshocks über 15 Minuten (Stress);
K = physiol. NaCl-Lösung;

— der ACTH-Level im Serum unter Dexamethasoneinfluß weit absinkt, und selbst auf die sonst stimulierende Morphinwirkung hin seinen niedrigen Wert nicht verläßt.
— normaler Serum-Prolactingehalt ebenso wie stressinduzierter Prolactin-Surge durch Dexamethason unterdrückt werden, morphinausgelöster Peak aber unverändert auftaucht.
— Naloxon den basalen Plasma-ß-Endorphinwert nur andeutungsweise anhebt, auf den footshockverursachten Gipfel potenzierenden Effekt demonstriert, dagegen den Ausgangs-, wie den nach Stress zu messenden Prolactinspiegel signifikant reduziert.

Die Resultate enthüllen, daß unter gewissen Bedingungen Plasma-Prolactin, -ACTH und -ß-Endorphin bei männlichen Ratten synchronen Änderungen unterworfen sind: Anstieg nach elektrischen Footshocks wie nach Morphinapplikation, Basalspiegeldepression und Reduktion der Stressantwort nach Dexamethasonvorbehandlung. Morphin erweist sich dabei selbst als "klassischer Stressor", d.h. es vermag die Hypophyse zu definitionsgemäßer Reaktion zu veranlassen: ACTH-, ß-Endorphin- und Prolactinentladung (Vgl. Tabelle 12).

Gleichzeitig erhält man den zwingenden Hinweis darauf, daß nicht alle drei einem gemeinsamen Releasemechanismus unterliegen, wenn man einmal vermerkt, daß Dexamethason zwar basale und stressbedingte Ausschüttung aller drei Hormone, wie morphinstimulierte ACTH- und ß-Endorphin-Freisetzung vermindert, morphininduzierte Prolactinabgabe

Tabelle 12: Überblick über Stimuli, die bei männlichen Ratten situationsabhängig zu synchroner oder asynchroner Änderung von ß-Endorphin-, ACTH- und Prolactin-Blutspiegel führen können:



jedoch nicht zu beeinflussen vermag. Entsprechend entbehrt Dexamethason in vitro einer Einwirkung auf normale, laktotrope (MEITES et al., 1979a; ROSSIER et al., 1980a), wohingegen sein Angriff auf corticotrope Hypophysenzellen bekannt ist. Zum anderen demonstriert Naloxon zwar die Fähigkeit, die Morphineffekte auf alle drei Hormone zu antagonisieren (ROSSIER et al., 1977a; 1979a; MEITES et al., 1979), läßt aber — im Gegensatz zu seinem basalspiegelsenkenden Einfluß auf Prolactin— die Ruhe-ACTH- und ß-Endorphinkonzentration unangetastet, und wirkt auf stressverursachte Erhöhung von Prolactin abschwächend, von ß-Endorphin und ACTH dagegen gar potenzierend (schematischer Überblick: Tabelle 12).

Erfährt für ACTH und ß-Endorphin angesichts dieser Tatsachen die Vermutung, beide gehorchten einem gemeinsamen, molekularen bzw. zellulären Releasemechanismus, Bestärkung, so dürfte für die teilweise synchron erfolgende Prolactinentladung ein anderes Prinzip zu suchen sein. Während konventionelle Opiatrezeptoren im ersten Fall offensichtlich nicht unmittelbar beteiligt sind, mehren sich die Anzeichen für eine ausschlaggebende Rolle dieser Bindungsstellen im Rahmen der Prolactinregulation.

Diese Kontroverse veranlaßt zu der Hypothese, daß ß-Endorphin unter entsprechenden Bedingungen als physiologischer PRF agiert (ROSSIER et al., 1979a; 1980a). Stimuli, die die Hypophyse zur kombinierten ACTH/ß-Endorphin-Ausschüttung anregen, bewirkten somit auch Prolactinabgabe,

d.h. sie provozierten den Ablauf zweier Prozesse: Veranlassung bestimmter Zellen, von gemeinsamer Vorstufe (Proopicortin) stammende Peptide (ß-Endorphin und ACTH) simultan auszuschleusen, wobei eines davon (ß-Endorphin) — eventuell lokal wirksam werdend — die Ingangsetzung des Releasemechanismus für ein weiteres Hypophysenhormon (Prolactin) übernimmt. Demnach wäre die dexamethasonbedingte Depression des basalen Prolactinspiegels eine Folgeerscheinung der reduzierten ß-Endorphinsekretion. Relativ gering mit endogenen Liganden besetzte Rezeptoren erklärten also einerseits die verminderte basale Prolactinkonzentration, andrerseits die trotz Dexamethasonvorbehandlung deutliche Prolactinansprechbarkeit auf Morphin.

Den überraschenderweise stimulierenden Naloxoneffekt auf die stressinduzierte ß-Endorphinerhöhung interpretieren ROSSIER et al. (1980a) als Anzeichen für die während der schmerzhaften Footshock-Behandlung stattgehabte Aktivierung eines endogenen Opioidsystems, das mit der Nociception verknüpft ist. Naloxon würde dann durch Blockierung der zugehörigen Rezeptoren zu einer Potenzierung der Schmerzempfindung, und in der Folge zu vermehrter, reaktiver ß-Endorphinentladung führen.

Dahingehend würe eventuell auch die zum Teil unvollständig antagonisierende Naloxonwirkung auf die Prolactinfreisetzung (Vgl. Tabelle 13) zu erklären, die vornehmlich unter mit Schmerzen verbundenen Versuchs-Stressbedingungen (Foot-

Tabelle 13: Antagonistischer Effekt von Naloxon auf den im Gefolge verschiedener, experimenteller Stressarten auftretenden Plasma-Prolactinanstieg männlicher Ratten:

	Naloxon (Naltrexon)			
	Dosis (mg/kg)	Appl. art	Appl.zeit (Min. vor Stress)	antagonistischer Effekt auf Prolactinanstieg
Orbitalsinuspunktion unter Äther (VAN VUGT et al., 1978a)	0,2	i.p.	0	⊙
Immobilisationsstress (VAN VUGT et al., 1978a)	0,2	i.p.	0	◉
Hitzestress (VAN VUGT et al., 1978a)	0,2	i.p.	0	⊙
Ätherexposition (SHIN, 1978)	0,3	i.v.	20	◉
Ätherexposition (FERLAND et al., 1978)	10,0	s.c.	10	◉
Footshocks (GRANDISON et al., 1977)	1,0	i.p.	10	⊙
Footshocks (ROSSIER et al., 1980a)	10,0	s.c.	5	⊙

◉ vollständige, ⊙ unvollständige, antagonisierende Wirkung

shocks, Orbitalsinuspunktion) zu registrieren ist. Auf der anderen Seite wird die Naloxondosis dem Grad gewählter Stressoren angepaßt werden müssen (Hitzestress). Als Alternative mag in Betracht zu ziehen sein, daß Naloxon möglicherweise nicht in jedem Fall zu kompletter Antagonisierung von ß-Endorphin-Effekten fähig ist (OLSON et al., 1979; ROSSIER et al., 1980a;JEAN-BAPTISTE et al., 1980).

Nachdem beim Menschen zwar signifikante Erhöhung der basalen Serum-ACTH- und -Cortisolkonzentration durch Naloxon, jedoch kein Effekt auf den Ruheprolactinspiegel festzustellen ist (VOLAYKA et al., 1979; MORLEY et al., 1980), testeten MORLEY et al. (1980) an acht gesunden Versuchspersonen, sieben Männern und einer Frau, die sich einer Gastroskopie unterzogen, Auswirkungen des Opiatantagonisten auf die stressinduzierte Cortisol- und Prolactinfreisetzung. Der Einführung des Endoskopes ging die intravenöse Applikation von 5 mg Diazepam und 10 mg Naloxon unmittelbar voraus. Die Blutentnahme (Venenkatheter) fand jeweils vor Verabfolgung der Drogen und sofort, wie 15, 60 und 120 Minuten nach Entfernung des Gastroskopes statt. Als Kontrolle dienten an 7 Männern unter identischen Bedingungen gewonnene Daten, wobei an Stelle von Naloxon physiologische Kochsalzlösung verabreicht worden war.

Abbildung 24 verdeutlicht, daß der Opiatantagonist eine Steigerung der Cortisolantwort 60 Minuten nach dem Gastroskopiestress verursacht, wohingegen er die Plasma-Prolactinwerte nicht signifikant beeinflussen kann. Allerdings zeigt Naloxon die Tendenz, unmittelbar und 15 Minuten nach der Endoskopie die Prolactinerhöhung zu potenzieren.

Auf der Grundlage ihrer Resultate nehmen MORLEY et al. (1980) an, daß beim Menschen im Gegensatz zu anderen Spezies endogene Opiate im Rahmen der Prolactinkontrolle von untergeordneter Bedeutung sind. In der naloxoninduzierten Cortisolerhöhung sehen sie den Hinweis auf primär erfolgte, vermehrte ACTH-Ausschüttung, die, kombiniert mit gesteigerter ß-Endorphinsekretion, auf den Versuch des Organismus zurückzuführen sei, die Opiatrezeptorblokkade kompetitiv zu überwinden.

Damit liegen sie in ihrer Interpretation prinzipiell auf gleicher Ebene mit ROSSIER et al. (1980a), die ausgehend von dem potenzierenden Naloxoneffekt auf die stressbedingte ß-Endorphinerhöhung bei männlichen Ratten — allerdings antagonisierenden Einfluß auf schmerzregulierende Vorgänge als mögliche Ursache ins Auge fassend — ebenfalls an eine Reaktion auf die Blockierung von Bindungsstellen endogener Liganden denken.

Während die "Schmerztheorie" von ROSSIER et al. (1980a) durch die unter Naloxonwirkung vermehrte Cortisol- (ß-Endorphin- und ACTH-) Ausschüttung nach Gastroskopie eher

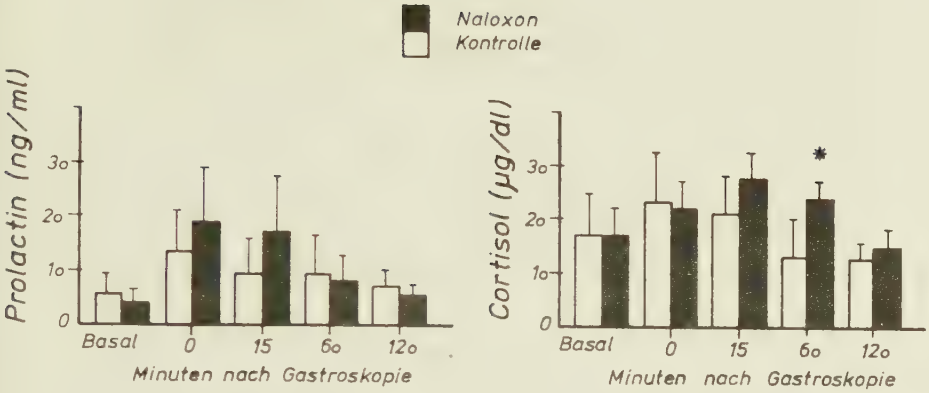


Abb. 24: Auswirkung von Naloxon (10 mg i.v.) auf die durch Gastroskopiestress induzierten Änderungen der Plasma-Prolactin- und -Cortisolkonzentration beim Menschen.

(* statistisch signifikant; $p < 0{,}001$) (n = 7-8 für jede Säule) (nach MORLEY et al., 1980)

unterstützt wird, widerspricht ihr in gewisser Weise die naloxoninduzierte Anhebung des basalen Cortisolspiegels beim Menschen.

Bei diesen Betrachtungen darf selbstverständlich nicht außer acht gelassen werden, daß ein Vergleich der bei verschiedenen Spezies gewonnenen Erkenntnisse nur mit Vorbehalt möglich ist. So kommen KALIN et al. (1980) aufgrund von Untersuchungen an Menschen und Rhesusaffen, bei welchen sie im Gefolge von Dexamethasonapplikation zwar Depression des Cortisol-, nicht jedoch des ß-Endorphinblutspiegels registrieren, zu der Anschauung, daß Corticosteroid-Feedbackmechanismen bei Primaten im Gegensatz zu Nagern

nicht unbedingt von Bedeutung für die ß-Endorphinausschüttung sind, die Steuerung von ACTH und ß-Endorphin hier also unterschiedlichen Regeln zu gehorchen scheint.

Des weiteren sei angemerkt, daß die von MORLEY et al. (1980) simultan mit der Naloxon-vorgenommene Diazepaminjektion vor Beginn der Gastroskopie durchaus von Einfluß auf die Ergebnisse gewesen sein könnte (TERENIUS, 1978; HERZ et al., 1980). Bei Versuchen an Ratten, denen sie Diazepam i.v. applizierten, hatten HERZ et al. (1980) gefunden, daß bereits 2-5 Minuten post iniectionem Änderungen des Methionin-Enkephalingehaltes diverser Hirnregionen (Anstieg im Hypothalamus, Abfall im Striatum) zu verzeichnen sind. Zudem scheint Naloxon in der Lage zu sein, einige Diazepameffekte zu antagonisieren, was die Autoren zu dem Schluß veranlaßt, Diazepam führe möglicherweise zu einer Freisetzung endogener Opiate.

Geht man von der ROSSIER'schen Hypothese aus, ß-Endorphin agiere als ein physiologischer PRF (ROSSIER et al., 1980a), dann erklärte eine naloxonverursachte Erhöhung der basalen ß-Endorphinkonzentration eventuell den ausbleibenden Effekt des Opiatantagonisten auf den Prolactinspiegel beim Menschen unter Ruhebedingungen: ß-Endorphin wäre hier in der Lage, einem Prolactinabfall zu begegnen. Somit hielte sich die konträre Naloxonwirkung auf ß-Endorphin einer- und Prolactin andrerseits die Waage. Bei der Ratte, deren

basaler ß-Endorphingehalt durch Naloxon keine signifikante Steigerung erfährt, sinkt Prolactin ab. Unter gleichzeitigem Stress- und Naloxoneinfluß würde ß-Endorphin in genügender Konzentration ausgeschüttet, um beim Menschen gar eine Prolactinerhöhung anzudeuten, während es bei der Ratte zwar die naloxoninduzierte Depression des Prolactinspiegels abschwächt, jedoch ein Absinken desselben nicht verhindern kann.

Obwohl die nach dieser Theorie gegensätzliche Naloxonaktion — ß-Endorphinstimulierung auf der einen, Prolactindepression auf der anderen Seite — im Augenblick weder zu beweisen, noch zu begründen ist, bietet sie doch für eine ganze Reihe widersprüchlicher und teilweise überraschender Resultate, die im Zusammenhang mit Untersuchungen der Opioid-Prolactin-Interaktion gewonnen wurden, einleuchtende Erklärungen. Als Beispiel dafür sei angefügt, daß SHAAR et al. (1977) bei ihren Experimenten an juvenilen, weiblichen Ratten eine Dosiswirkungskurve für Naloxon hinsichtlich seines Einflusses auf den basalen Prolactinspiegel aufgestellt hatten, die biphasischen Verlauf demonstriert: zunehmender Effekt mit steigender Dosierung bis zu einem Punkt, von dem aus höhere Dosen ins Gegenteil umschlagen. Naloxon entfaltete hier also zunächst seine hemmende Aktion auf Prolactin, während seine ß-Endorphin anregende Wirkung erst bei höherer Dosis soweit zum Tragen käme, daß sie erstere zu egalisieren vermag.

Um diese Vermutungen zu erhärten, müßte parallel zur Erstellung einer Naloxon-Dosiswirkungskurve für die Prolactin-, eine solche für die ß-Endorphinbeeinflussung erarbeitet werden.

Nachdem neben der von ROSSIER vertretenen Anschauung, ß-Endorphin sei als ein PRF in Betracht zu ziehen (ROSSIER et al., 1980a), zahlreiche Hinweise auch auf eine anderweitige Verflechtung endogener Opiate mit der Prolactinsekretion gegeben sind, spiegelt sich hierin einmal mehr die komplexe Organisation der Prolactinkontrolle wie der diversen Prolactin-Freisetzungsstimuli. In dem noch undurchdringlichen Netzwerk beteiligter Faktoren könnte die ß-Endorphin-PRF-Theorie als ein Teilaspekt nicht nur im Hinblick auf Stress-Situationen Gestalt annehmen, sondern auch —zumindest beim Menschen— für die basale Prolactinsteuerung aufgehen.

6. BEDEUTUNG ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSEN-GONADENACHSE MÄNNLICHER TIERE

6.1. VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN AN INTAKTEN UND KASTRIERTEN TIEREN

Nach Gonadektomie kommt es durch den Wegfall der negativen Feedbackkontrolle der Gonadensteroide zu einer "Enthemmung" des Hypothalamus-Hypophysen-Systems, die sich in einem Ansteigen der Serum-Gonadotropinkonzentration artikuliert. Bei männlichen Kastraten schnellt der LH-Spiegel bereits innerhalb von 24 Stunden post operationem in die Höhe, während FSH dem Trend mit einiger Verzögerung folgt. Dagegen stellt sich die Gonadotropinantwort auf Ovariektomie mit einer Latenz von mehreren Tagen ein; FSH spricht etwas früher an als LH. Für die Ausprägung der sexuellen Unterschiede in Reaktionszeit und -muster der Gonadotropine post castrationem spielen vermutlich eine Reihe von Faktoren zusammen, wie geschlechtsbedingte Kapazitätsdifferenzen seitens des negativen Feedbacksystems, ungleiche Rezeptoraffinität der einzelnen Steroide, verschiedene Organisation der Feedbackmechanismen, divergierende Konzentration und Lokalisation der Steroidbindungsstellen in Gehirn und Hypophyse, möglicherweise auch graduell abweichende Steroidsubstitution durch die Nebenniere. Sicherlich spiegelt sich darin nicht zuletzt die physiologischerweise in beiden Geschlechtern differierende "Beanspruchung" dieser Systeme.

Auffällig sind, neben den absolut erhöhten Serum-LH- und -FSH-Konzentrationen, der nach Gonadektomie zu beobachtende, beschleunigte Freisetzungsrhythmus und das demzufolge veränderte Verlaufsmuster der Gonadotropinspiegel: Eine Plateauphase erstreckt sich bei beachtlicher Amplitude über jeweils ca. 10 Minuten und wiederholt sich in stündlichen Intervallen.
Gonadektomie bei Versuchstieren schafft nun vorrangig eine Situation, in der man davon ausgehen darf, daß durch den Wegfall zirkulierender Gonadenhormone die Feedbackeffekte großteils aufgehoben sind, und somit durch gezielte Substitution eine gewisse Prüfung der einzelnen Steroidderivate, quantitativer wie qualitativer Art, vorgenommen werden kann. Auf dieser Grundlage wurde eine Vielzahl von Experimenten durchgeführt, die u.a. Aufschluß geben sollten über eine mögliche Interaktion von endogenen Opiaten und Steroiden hinsichtlich der Gonadotropinkontrolle.

Effekte von Morphin und Naloxon auf die kastrationsinduzierte Steigerung der LH-Freisetzung wurden in Versuchsreihen an männlichen Ratten getestet (VAN VUGT et al., 1978b; MEITES et al., 1979). Je 10 Tiere erhielten, beginnend zwei Stunden post castrationem, in sechsstündigen Abständen i.p. Morphinsulfat (10 mg/kg), Naloxon (0,2 mg/kg) bzw. 0,87 %ige NaCl-Lösung. Als zusätzliche Kontrolle

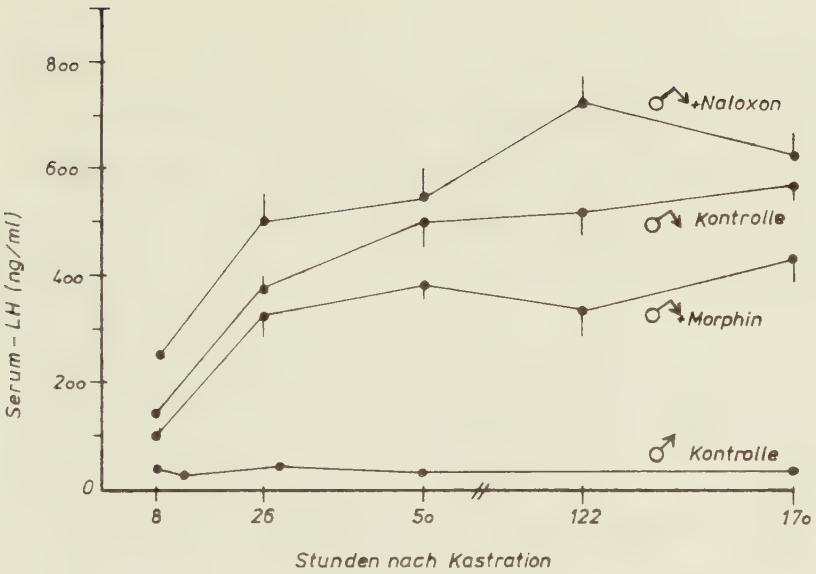


Abb. 25: Auswirkung von Morphin und Naloxon jeweils 6 Stunden post iniectionem auf die LH-Serumkonzentration kastrierter, männlicher Ratten im Vergleich zu kastrierten und intakten Kontrolltieren (n = 10 für jede Kurve). (nach MEITES et al., 1979 und VAN VUGT et al., 1978b)

dienten 10 intakte Männchen, die in entsprechenden Zeitintervallen ebenfalls physiologische Kochsalzlösung erhielten. Mittels Orbitalsinuspunktion unter leichter Ätheranästhesie wurden die Blutproben zur LH-Bestimmung (RIA) jeweils sechs Stunden nach Drogeninjektion entnommen. Die Ergebnisse zeigt Abbildung 25.

Während Morphin den LH-Anstieg post castrationem signifikant reduzieren kann, potenziert ihn Naloxon. Die Untersucher schließen daraus, daß endogene Opiate physiologischerweise eine tonische Hemmung auf die LH-Sekretion ausüben und auch nach Kastration noch einen Maximalanstieg von LH verhindern.

Weitere, systematische Schritte unternahmen CICERO et al. (1979, 1980), indem sie den Verlauf der LH-Reaktion auf Naloxon in Abhängigkeit von der Zeit post iniectionem bei kastrierten und scheinoperierten, männlichen Ratten verglichen. Die Tiere erhielten 48 Stunden nach Orchiektomie bzw. Scheinoperation 1 mg Naloxon (s.c.). Anschließend wurden in bestimmten Zeitintervallen jeweils 8-10 Ratten jeder Gruppe dekapitiert und die LH-Serumwerte ermittelt (Abb. 26a).

Die wichtigsten Erkenntnisse aus dieser Versuchsreihe sind, daß bei beiden Testgruppen

- ca. 20 Minuten nach Naloxoninjektion (s.c.) der LH-Peak zu erwarten ist (dabei erweist sich das zeitliche Auftreten des Gipfels als dosisunabhängig);
- der LH-Spiegel sich ca. 60-90 Minuten post iniectionem wieder auf den Ausgangswert einpendelt.

Insgesamt stimmen die in diesem Experiment für scheinoperierte Tiere gewonnenen Daten gut mit den an intakten,

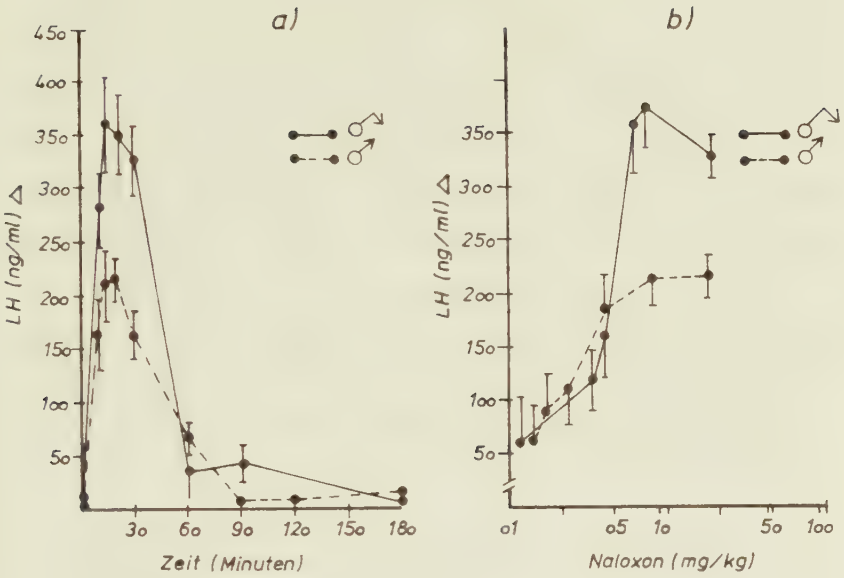


Abb. 26: (nach CICERO et al., 1980)

a: Vergleichende Darstellung des Naloxoneffektes (1 mg/kg s.c.) auf Serum-LH kastrierter und scheinoperierter, männlicher Ratten in Abhängigkeit von der Zeit post iniectionem.

b: Vergleich der Dosiswirkungskurven für Naloxon hinsichtlich seines LH-stimulierenden Effektes bei kastrierten und scheinoperierten, männlichen Ratten 20 Minuten post iniectionem.

△ LH: Die Daten stellen den Zuwachs nach Naloxonstimulation gegenüber Kontroll-LH-Werten (bei kastrierten ca. 650-700 ng/ml, bei intakten Tieren ca. 25 ng/ml) dar (n = 8-10 für jeden Punkt). Ausgedrückt in % des Ausgangswertes ergibt sich also für intakte Tiere eine LH-Erhöhung um 800-1000 % gegenüber nur ca. 50 % bei kastrierten!

männlichen Ratten — ohne vorherige Operation — registrierten Werten (CICERO et al., 1979) überein, was darauf hinweist, daß eventuelle, operationsbedingte Abweichungen nach 48 Stunden keinen großen Einfluß mehr entfalten.

Aufbauend auf diese Resultate konnte eine Dosiswirkungskurve für Naloxon aufgestellt werden, indem die LH-Serum-Konzentrationen jeweils 20 Minuten (Peak!) nach Applikation verschieden hoher Naloxondosen festgehalten wurden (Abb. 26b). Es zeigt sich, daß Dosen unter 0,1 mg/kg keine signifikante Wirkung, Dosen über 1 mg keine weitere LH-Spiegelanhebung erbringen.

Mit seinen Ergebnissen weicht CICERO erheblich von anderen Autoren ab (Vgl. Abb. 25 und 26). Während er bereits 60-90 Minuten nach Naloxonapplikation an kastrierte, männliche Ratten die Rückkehr der LH-Serumkonzentration zum Ausgangswert vermerkt, können MEITES und VAN VUGT (VAN VUGT et al., 1978b; MEITES et al., 1979) noch 6 Stunden danach eine signifikante LH-Erhöhung feststellen. Die Interpretation dieser Diskrepanz ist nicht ganz leicht, doch geben möglicherweise die stark differierenden LH-Kontroll- bzw. Ausgangsdaten beider Arbeitsgruppen einige Auskunft: So zeigen die Ratten 48 Stunden nach Orchiektomie bei CICERO einen Serum-LH-Spiegel von ca. 680 ng/ml im Gegensatz zu ca. 500 ng/ml, 50 Stunden post castrationem, bei MEITES und VAN VUGT.

Mit einigem Verwundern ist zu bemerken, daß sich bei den Versuchen von MEITES und VAN VUGT trotz der über 170 Stunden mit sechsstündigen Intervallen erfolgenden Verabreichung von Morphin (10 mg/kg) und Naloxon (0,2 mg/kg) aus den gewonnenen LH-Verlaufskurven keinerlei Toleranzentwicklung ablesen läßt. Zumindest für Morphin könnte man eine derartige Reaktion erwarten, einerseits aufgrund der relativ hohen Dosis im Gegensatz zu Naloxon, zum anderen angesichts der wesentlich längeren Halbwertszeit (Naloxon: ca. 20 Minuten; Morphin: ca. 6 Stunden). Berücksichtigt man jedoch, daß sich nicht jeder von Morphin beeinflußte Parameter gleich empfindlich gegenüber dem Phänomen der Toleranzausbildung erweist (FRENCH et al., 1979), so sind sicherlich noch eine Reihe von Untersuchungen nötig, um einschätzen zu können, ab wann, bei welchen Dosen und Applikationsintervallen mit derartigen Erscheinungen in der LH-Reaktion auf Morphin zu rechnen ist.

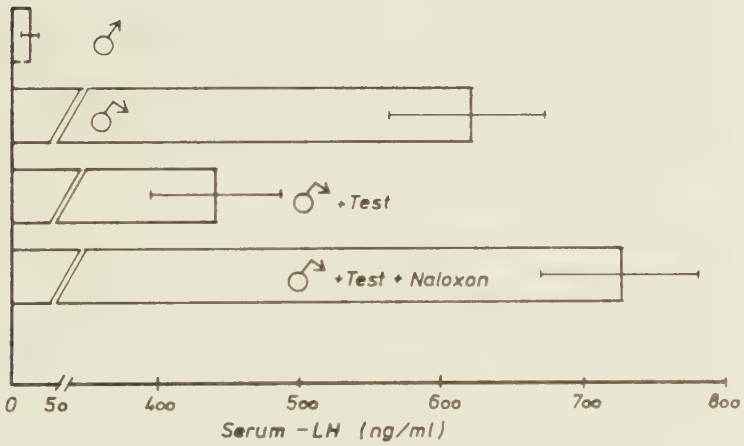
Analog wie für Naloxon, prüften CICERO et al. (1977a und b, 1979) auch für Morphin den Verlauf der LH-Spiegelreaktion in Abhängigkeit von der Zeit post iniectionem, und verglichen die bei intakten und kastrierten, männlichen Ratten erhaltenen Daten. Während bei intakten Tieren ein beginnender LH-Abfall erst nach 30-45, die maximale Reduktion nach 90-120 Minuten beobachtet wird, reagieren kastrierte bereits nach 10-15 Minuten signifikant, erreichen die Peak-Depression jedoch ebenfalls erst nach

ca. 90 Minuten.
Diese Abweichung interpretiert CICERO als methodische Ungenauigkeit bei eigentlich ähnlicher, zeitlicher Auswirkung von Morphin. So schreibt er die schnelle Registrierbarkeit von LH-Spiegelabweichungen bei kastrierten Tieren den wesentlich höheren Ausgangswerten zu, während er, anbetrachts der relativ niedrigen LH-Werte bei intakten Ratten, die Aufdeckung früher Abweichungen für kaum möglich hält. Dafür argumentiert die Tatsache, daß der maximale LH-Abfall zu etwa gleicher Stunde auftritt.

Ein zusätzlicher Aspekt erfährt Berücksichtigung (CICERO et al., 1979), indem männlichen Ratten, 24 Stunden nach Kastration, Testosteronpropionat (2 mg/kg) bzw. Placebo (ölige Trägerlösung) s.c. verabreicht wird. Die Hälfte jeder Gruppe erhält simultan Naloxon (5 mg/kg) bzw. physiologische Kochsalzlösung. Als zusätzliche Kontrolle dienen die LH-Werte von intakten, männlichen Ratten, die 24 Stunden zuvor unter den gleichen Bedingungen wie die kastrierten Tiere "scheinoperiert" wurden. Aus den eine Stunde post iniectiones erhaltenen LH-Werten läßt sich ablesen, daß Testosteron den kastrationsbedingten LH-Anstieg signifikant reduzieren, Naloxon wiederum die Testosteronwirkung aufheben kann (Abb. 27).

Abb. 27: Effekt von Naloxon (5 mg/kg) auf die durch exogenes Testosteron (2 mg/kg) bedingte Hemmung des LH-Anstiegs 24 Stunden post castrationem bei männlichen Ratten (pro Säule: n = 6).

(nach CICERO et al., 1979)



6.2. OPIOID-ANDROGEN-INTERAKTIONEN

Die Tatsache, daß Naloxon zum einen in der Lage ist, bei männlichen Ratten, d.h. in Anwesenheit der androgenvermittelten Feedbackkontrolle, eine signifikante Steigerung der LH-Sekretion zu induzieren, hatte die These aufgeworfen, endogene Opiate seien physiologischerweise an der Regulation der Gonadotropinfreisetzung im Sinne eines hemmenden Faktors beteiligt.
Nun erweist sich der Opiatantagonist zum anderen als fähig, seine LH-Spiegel anhebende Wirkung auch bei kastrierten, d.h. ihres Androgenenvironments enthobenen Tieren zu behaupten und die orchiektomieinduzierte LH-Erhöhung noch zu potenzieren, was zu der Anschauung führt, daß selbst nach Gonadektomie, also unabhängig von Gonadensteroiden, noch ein gewisses, durch Naloxon aufhebbares Potential opioidverursachter LH-Hemmung da sein muß (möglicherweise aufrechterhalten durch anwesende Nebennierensteroide).

Ein dritter Gesichtspunkt tritt dadurch hinzu, daß Naloxon, simultan mit Testosteron kastrierten Tieren appliziert, die Androgenwirkung auf LH zu egalisieren vermag. Umgekehrt verfügt Morphin (stellvertretend für Opioidpeptide verabfolgt) über die Fähigkeit, die LH-Sekretion bei —kastrierten wie intakten— männlichen Tieren signifikant zu unterdrücken und als Folgereaktion die Testosteronproduktion durch die Gonaden zu reduzieren.

Betrachtet man nun die Ähnlichkeit der von endogenen Opiaten einer- und von Steroiden andrerseits auf die Gonadotropinfreisetzung ausgeübten Effekte, und berücksichtigt daneben, daß sowohl Androgen- wie Opiatrezeptoren in hoher Konzentration im Hypothalamus und zudem in enger Nachbarschaft zu LHRH-Neuronen angetroffen werden, so drängt sich die Vermutung auf, endogene Opiate könnten "eine Brücke" sein, über die Gonadensteroide ihren negativen Feedbackeffekt auf hypothalamischer Ebene entfalten. Andererseits dürften sie aber ein System darstellen, dem zumindest eine gewisse Eigenwirkung im Rahmen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse, unabhängig von Gonadensteroiden, zuerkannt werden muß, die sich möglicherweise unter physiologischen (und pathologischen) Bedingungen auf entsprechende endo- wie exogene Stimuli (z.B. Stress, Schmerzen, Wechsel in Tageslänge bzw. Hell-Dunkel-Muster) hin in einer Modulierung des Steroid-Feedbackeffektes äußert.

Die Frage, ob, wo und wie eine Interaktion zwischen endogenen Opiaten und Gonadensteroiden stattfindet, rückten immer mehr in den Mittelpunkt des Interesses. Es fanden zahlreiche in-vitro-Untersuchungen statt, die zumindest nach dem "Ausschlußprinzip" weitere Hinweise ergaben.

Cytosolpräparationen aus Hypothalamusgewebe kastrierter, männlicher Ratten (Operation 48 Stunden vor Dekapitation der Tiere zur weitgehenden Ausschaltung endogener Testosteronreserven) wurden mit [^{3}H]-Dihydrotestosteron (3,3 x 10^{-11} M) und Naloxon in steigenden Konzentrationen (1 x 10^{-10} - 1 x 10^{-4} M) inkubiert. Dabei zeigt sich die spezifische [^{3}H]-DHT-Bindung an Cytosol-Proteine (identifiziert als ca. 70 % der totalen Bindung) in keiner Weise durch Naloxon beeinträchtigt (CICERO et al., 1980).

Somit dürfte ein kompetitiver Antagonismus der beiden Substanzen wenigstens hinsichtlich der spezifischen Hypothalamus-Steroidbindungsstellen auszuschließen sein. Umgekehrt war zu beweisen, daß Steroide ihrerseits nicht mit Opioiden um Opiatrezeptoren konkurrieren.
Dazu dienten hypothalamische Membranpräparationen, denen [^{3}H]-Naloxon (5 x 10^{-9} M) und eine Anzahl verschiedener Androgenderivate (u.a. Testosteron, Dihydrotestosteron, Androsteron, Androsteron-SO_4) in variierenden Dosen (1 x 10^{-9} - 1 x 10^{-5} M) zugesetzt wurden. Keines der untersuchten Steroide demonstriert einen hemmenden Effekt auf die — als ca. 80 % der totalen ermittelte — spezifische [^{3}H]-Naloxonbindung. Auch bei Verwendung unterschiedlicher Inkubationstemperaturen (0°, 25°, 37°C) zeigt sich keine Änderung der Ergebnisse (CICERO et al., 1980).

Nach diesen Resultaten scheint vonseiten der Steroide zumindest keine nennenswerte Affinität zu Opiatrezeptoren

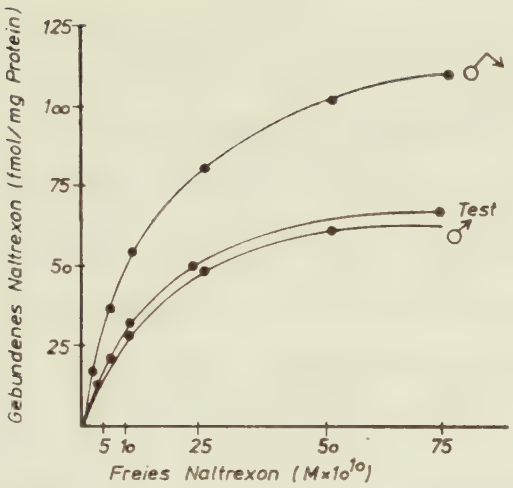
im Hypothalamus zu bestehen. Abweichende Ergebnisse von anderen Untersuchern, wie die Beobachtung, Narkotika konkurrierten mit Steroiden um deren Bindungsstellen in Lebermikrosomen, und umgekehrt verdrängten Steroide Naloxon von seinen Rezeptoren im Gehirn (LA BELLA, 1975), sind z.T. auf die Verwendung extrem hoher Konzentrationen der einzelnen Substanzen zurückzuführen, die, laut SNYDER (1974), unspezifischen Verdrängungsreaktionen Vorschub leisten. Denkbar ist außerdem, daß die Situation in einem Organ (Gehirn) nicht unbedingt ohne Abstriche auf andere (Leber) übertragbar sein muß, oder daß innerhalb eines Organes in ihrer Spezifität unterschiedliche Rezeptorpopulationen auftreten können. Auch der Tatsache, daß in-vitro-Versuche nur bedingt die Verhältnisse in vivo nachvollziehen, sollte bei diesen Überlegungen Rechnung getragen werden.

Die Wahrscheinlichkeit, daß Androgene — unabhängig von einer etwaigen Affinität zu Opiatrezeptoren — doch erheblichen Einfluß auf diese Bindungsstellen im Gehirn männlicher Ratten nehmen, demonstrierten HAHN et al. (1979). Aus Hirngewebe (abzüglich Cerebellum) intakter, kastrierter (3 Wochen post castrationem), sowie kastrierter, testosteronsubstituierter (2,5 mg Testosteronpropionat s.c. über 7 Tage), männlicher Ratten stellten sie Suspensionen her (Hirn-P-2-Fraktionen), die sie mit

steigenden Konzentrationen von [^{3}H]-Naltrexon (2×10^{-10} - $7{,}5 \times 10^{-9}$ M) inkubierten (15 Min. bei 37°C). Wie Abbildung 28a ablesen läßt, ergibt sich bei kastrierten Tieren eine um fast 100 % höhere, spezifische Sättigungsbindungskurve verglichen mit intakten und testosteronbehandelten, kastrierten Ratten, die beinahe identischen Kurvenverlauf aufweisen. Daraus läßt sich ableiten, daß der beobachtete Effekt androgenabhängig ist.

Die Darstellung der Daten nach Scatchard-Analyse enthüllt, daß in den Gewebssuspensionen zwei unterschiedliche Opiatbindungsstellen — solche mit hoher und solche mit geringer Affinität — existieren, zeigt aber ferner, daß sich die Dissoziationskonstanten für die jeweilige Rezeptorpopulation bei den verschiedenen Hirnpräparationen nicht wesentlich unterscheiden, also der signifikant höheren, maximalen Sättigungsbindung (B_{max}) für beide Opiatrezeptorklassen bei kastrierten Tieren keine Affinitätssteigerung zugrunde liegt (Abb. 28b).

Trotz der, mit dieser Testserie aufgeworfenen, neuen und interessanten Aspekte, stehen Ursache und Bedeutung des erhöhten Opiatrezeptorgehaltes im Gehirn männlicher Ratten nach Kastration noch offen. Daß der An- bzw. Abwesenheit von Androgenen dabei eine zentrale Rolle zukommt, dürfte außer Frage stehen. Direkter, kompetitiver Antagonismus zwischen Testosteron und Naloxon war jedoch zumindest für die Opiatbindungsstellen im Hypothalamus weitgehend ausgeschlossen worden (CICERO et al., 1980).



	♂	♂+T	♂
Bmax.- hohe Affinität	54,7 ± 5,1	58,8 ± 4,8	100,2 ± 7,4
Bmax.- geringe Affinität	88,8 ± 6,5	94,8 ± 7,3	142,1 ± 8,3

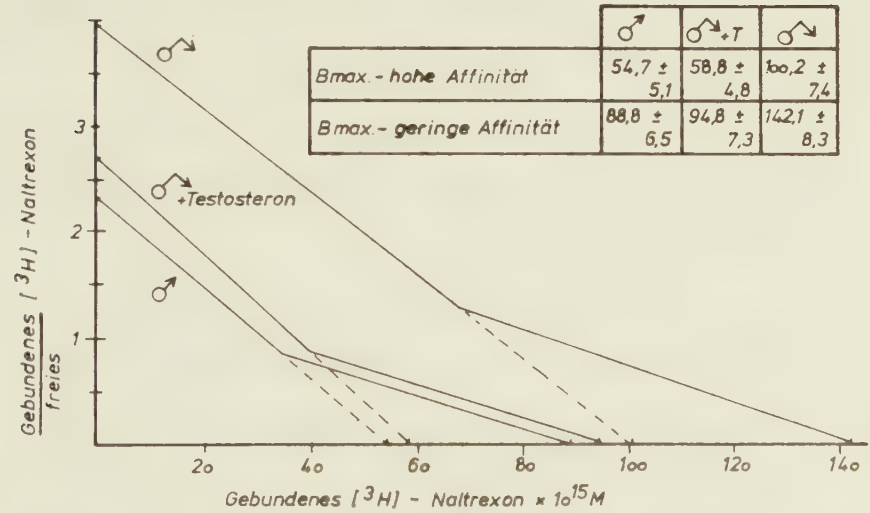


Abb. 28: (nach HAHN et al., 1979)

a: Sättigungskurve für stereospezifische [^{3}H]-Naltrexon-Bindung an P-2-Fraktionen im Gehirn intakter, kastrierter, sowie kastrierter, testosteronsubstituierter, männlicher Ratten.

b: Scatchard-Analyse der [^{3}H]-Naltrexonbindung an P-2-Fraktionen im Gehirn intakter, kastrierter, sowie kastrierter, testosteronsubstituierter, männlicher Ratten.

So spiegelt die gesteigerte Bindungskapazität vermutlich entweder die Neusynthese von Rezeptormolekülen oder, was wahrscheinlicher ist, die auf einer Reduktion endogener Liganden beruhende Zunahme freier Bindungsstellen wider. Dadurch würde die These gestützt, daß der steroidvermittelte Feedbackeffekt auf die Gonadotropinsekretion über eine Induktion endogener Opiate abläuft, die mit dem Wegfall von Androgenen post castrationem ausbliebe, und unweigerlich eine immer geringer werdende Rezeptorbesetzung nach sich zöge. Zudem fände die Beobachtung, daß Naloxon bei kastrierten, männlichen Ratten die negative Feedbackwirkung exogenen Testosterons auf die LH-Sekretion zu blockieren vermag (CICERO et al., 1979), hierin eine Erklärung: Die androgenstimulierten, endogenen Opiate treffen auf blockierte Rezeptoren und entbehren somit eines Effektes.

Ein weiterer Beweis für eine Steroid-Opiat-Interaktion auf zentralnervöser Ebene wurde von dem Autorenteam um HAHN (HAHN et al., 1977; 1979) aufgrund einer ähnlich angelegten Versuchsreihe geliefert, in der sie die N-Demethylierungsrate von Morphin in Gehirnen intakter, kastrierter und testosteronsubstituierter, männlicher Ratten verglichen. Wiederum ergibt sich, im Gegensatz zur Situation in Androgenanwesenheit, bei kastrierten Tieren eine signifikant gesteigerte Reaktion.

Nachdem schon vor Jahren die Vermutung geäußert worden war, die N-Dealkylierung im Gehirn stehe in enger Beziehung zu der rezeptorvermittelten Opiatwirkung (FISHMAN et al., 1976), sehen HAHN et al. (1979) in ihren jüngsten Versuchsergebnissen, also in der Erhöhung von Opiatrezeptorgehalt einerseits und N-Demethylierungsrate von Morphin andrerseits im Gefolge der Kastration männlicher Ratten, außer der Bestätigung für eine Verknüpfung dieser beiden Vorgänge, auch — angesichts der Rückführbarkeit zu Werten intakter Männchen durch Testosteronsubstitution — den Hinweis auf einen androgenabhängigen Mechanismus.

6.3. ANDROGENE, PROLACTIN UND ENDOGENE OPIATE

Spezifische Prolactinbindungsstellen im männlichen Geschlechtsapparat (Testes, Prostata) lassen auf eine — ähnlich wie für das Ovar postulierte — Interaktion mit LH auf Rezeptorebene schließen, wobei Prolactin offenbar modulierenden Einfluß auf die LH-Bindung an Leydig-Zellen nimmt. Steigendes Plasmaprolactin soll darüberhinaus die Dihydrotestosteronsynthese über Einwirkung auf die 5α-Reduktaseaktivität mindern, wenngleich unklar ist, ob Testosteron seinerseits die basale Prolactinsekretion beeinflußt, zumal in hypogonadalen Männern, unabhängig von Androgensubstitution, keine Abweichung vom Normalwert registriert wird (DEL POZO et al., 1979).
Thyrotropin-Releasing-Hormon (TRH) provoziert bei verschiedenen Spezies eine Anhebung der Plasmaprolactinkonzentration und steigert in vitro die Prolactinfreisetzung laktotroper Hypophysenzellen, was ihm den umstrittenen Ruf eines physiologischen PRF eingebracht hat (TINDAL, 1978; RAYMOND et al., 1978; LABRIE et al., 1978; HARRIS et al., 1978; EUVRARD et al., 1979; DEL POZO et al., 1979; DUFY et al., 1979). Durch den weitgehenden Entzug von Androgenen post castrationem wird die TRH-induzierte Prolactinerhöhung bei männlichen Ratten abgeschwächt (GOLDBERG et al.,1980). Andrerseits ist TRH bei intakten, männlichen Tieren in der Lage, den ß-endorphinverursachten Plasmaprolactinanstieg zu potenzieren (TACHÉ et al., 1977).

Demnach stellten sich GOLDBERG et al. (1980) die Aufgabe, herauszufinden, inwieweit opioidstimulierte Prolactinsekretion bei männlichen Ratten im Gefolge von Orchiektomie einer Veränderung unterliegt. Dazu verglichen sie den Effekt von 500 µg Met-Enkephalin nach intracerebroventrikulärer Applikation (rechter Ventrikel) auf den Serum-Prolactinspiegel intakter und kastrierter, männlicher Ratten. Es zeigt sich, daß — neben schon wesentlich geringerem, mittlerem Prolactinbasallevel bei orchiektomierten Tieren — die Prolactinantwort auf Met-Enkephalin 14 Tage post castrationem deutlich vermindert ist (Abb. 29). Die Tatsache, daß in dieser Versuchsreihe kein signifikanter Met-Enkephalin-Einfluß auf den LH-Gehalt im Blut zu vermerken ist, dürfte der schnellen Inaktivierung des Peptids bei "längerem Weg" bis zum Erreichen des Reaktionsortes (verglichen mit dem Opioidangriffspunkt im Rahmen der Prolactinstimulation) zuzuschreiben sein.
Der an Kastraten beobachtete, niedrige Prolactinbasalwert mag auf eine Reduktion stimulierender — und entsprechend das post castrationem erhöhte Serum-LH auf eine Abnahme hemmender — Opiatrezeptorliganden hinweisen. Somit scheint sich zu bestätigen, daß durch Androgenanwesenheit zumindest indirekt, d.h. über Opioidstimulation, möglicherweise auch unter Einschaltung von TRH, Einfluß auf den Prolactinspiegel genommen wird. Darüberhinaus deutet sich die Möglichkeit an, daß endogene Opiate über Anregung der Prolactinausschüttung — und folglich Abschwächung der

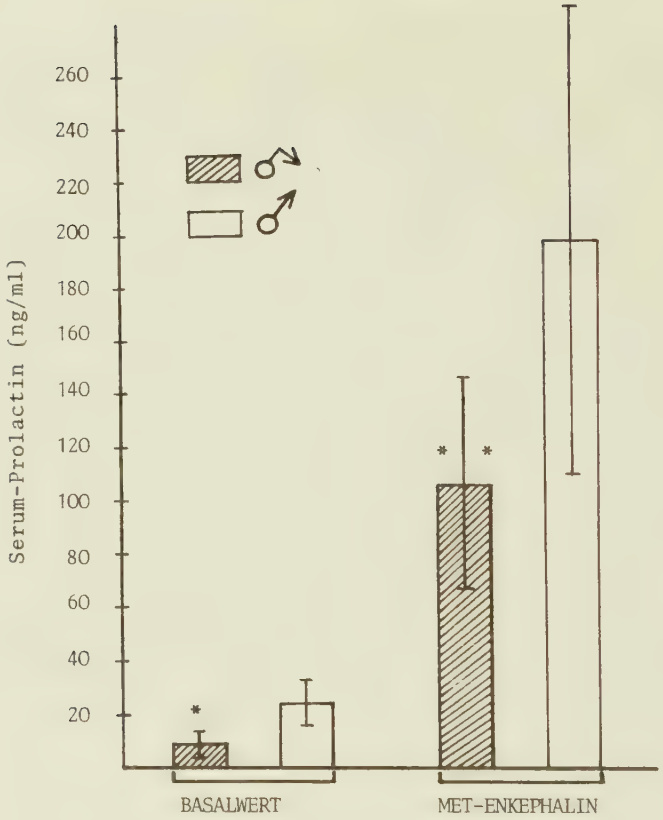


Abb. 29: Vergleichende Darstellung von Prolactinbasalspiegel und Serum-Prolactingehalt nach Stimulation durch Met-Enkephalin (10 Min. nach i.c.v. Injektion von 500 µg) bei intakten und kastrierten, männlichen Ratten.

* $p < 0{,}001$; ** $p < 0{,}01$ im Vergleich zu intakten, männlichen Tieren. (nach Angaben von GOLDBERG et al., 1980).

5 α -Reduktaseaktivität — sekundär auf die Testosteronsynthese einwirken.

6.4. ENDOGENE OPIATE IN MÄNNLICHEN GESCHLECHTSORGANEN

Die weite, sich auch auf Bezirke außerhalb des Zentralnervensystems und der Hypophyse erstreckende Verteilung endogener Opiate im Organismus, wie die Gegenwart spezieller Opiatbindungsstellen im Vas deferens von Ratte und Maus, veranlaßten SHARP et al. (1980), männliche Geschlechtsorgane auf die Anwesenheit immunoreaktiven ß-Endorphins zu untersuchen. Von erwachsenen,männlichen Ratten gewannen sie je einen Hoden und Nebenhodenschwanz, Prostata, Samenblasendrüsen und Vasa deferentia.

Die Seriendilution gepoolten Hodenextraktes von 8 Ratten ergibt parallel zur RIA-Standardkurve verlaufende ß-Endorphin-Immunoreaktivität, die, bei der Gelchromatographie (Sephadex G-50) mit ß-Lipotropin und [^{125}J]-ß-Endorphin übereinstimmende Elutionspositionen demonstrierend, ein molares Verhältnis von ß-Endorphin und ß-Lipotropin von 6,1 ermitteln läßt. Ein kleiner Peak im Leervolumen soll möglicherweise den "31 K-Vorläufer" von ß-Lipotropin/ß-Endorphin repräsentieren. Da sich der Gehalt an immunoreaktivem ß-Endorphin im Serum der Ratte um 200-400 pg/ml bewegt, den gemessenen Wert im Hodenextrakt von 1,25 pg/mg also deutlich unterschreitet, und somit Blut als alleinige Quelle wegfällt, interpretieren die Autoren ihre Ergebnisse als Beweis für die Anwesenheit ß-Endorphin-Immunoreaktivität aufweisender Peptide in den Testes, die dort synthetisiert oder rezeptorgebunden, möglicherweise regulatorische Funktionen endogener Opiate in männlichen Geschlechtsor-

ganen andeuten.

Die für Samenblasendrüsen und Prostata erhaltenen Daten liegen bei 0,28 und 0,24 pg/mg, also bei rund einem Viertel der Konzentration im Hoden, während in Nebenhoden und Vasa deferentia — eventuell auf die sehr geringen Mengen analysierten Gewebes zurückgehend — kein ß-Endorphingehalt nachweisbar ist. Um diese Resultate zu bestätigen, wäre es anzuraten, weitere Experimente durchzuführen, die, basierend auf Radiorezeptor- und Bioassaystudien, den Opioidcharakter der entdeckten Peptide unterstreichen.

6.5. ENDOGENE OPIATE UND MÄNNLICHES SEXUALVERHALTEN

Im Rahmen der Beobachtungen, wonach endogene Opiate die Ausprägung einer ganzen Anzahl von Verhaltensmustern beeinflussen (GREVERT et al., 1977; TACHÉ et al., 1977; LICHTBLAU et al., 1977; CATLIN et al., 1978; OLSON et al., 1979; JACQUET, 1979; KATZ et al., 1979; STEIN et al., 1979; KING et al., 1979; DANTZER et al., 1979; LE MOAL et al., 1979; RILEY et al., 1980; STINUS et al., 1980; MORLEY, 1980; KORCZYN et al., 1980; HERNÁNDEZ et al., 1980; RISCH et al., 1980), sind die Versuche von MEYERSON und TERENIUS (1977) interessant, die den Effekt von ß-Endorphin auf das Kopulationsverhalten männlicher Ratten testeten. Dazu prüften sie zunächst sechs Wochen lang in zwei- bis dreitägigen Abständen an Tieren, die mit im Östrus befindlichen Weibchen zusammengebracht wurden, Reaktionszeit ($<$ 5 sec) und Aufsprunghäufigkeit (4/Min.). Vier Wochen vor Experimentbeginn erhielten die Ratten Dauerkanülen in beide laterale Ventrikel implantiert, über die dann während der Versuchsperioden bilateral 1 bzw. 3 µg ß-Endorphin (in 25 µl physiologischer NaCl-Lösung über 5 Minuten) appliziert wurden. In einem Beobachtungskäfig konnten sich die Tiere jeweils 5 Minuten lang adaptieren, wobei das Explorationsverhalten mittels eines unter dem Käfig angebrachten Aktivitätsmeters (Animex^{R}) festgehalten wurde. Eine anschließend für 5 Minuten dazugesetzte, kastrierte,männliche Ratte, als "Parameter" für soziosexuelles Verhalten, wurde schließlich durch ein weib-

liches, ovariektomiertes, östrogen-progesteron-vorbehandeltes Tier (Applikation von 25 µg Östradiolbenzoat, 48 Stunden und 1 mg Progesteron, 4-6 Stunden zuvor), das reges Östrusverhalten demonstrierte, abgelöst.
Während Explorations- und sozio-sexuelle Aktivität lediglich im Gefolge der 3 µg-Dosis ß-Endorphin leichte Depression verzeichnen lassen, zeigen schon auf 1 µg nur noch 5 von 13 Männchen schwache Ansätze — bei signifikant erhöhter Reaktionszeit ($\geqslant$ 35 sec) — das Weibchen zu bespringen. Dabei läuft das Prekopulationsverhalten scheinbar völlig ungestört ab. Auch Anzeichen eines kataleptoiden Status, wie er sich nach einer Dosis von 30 µg ß-Endorphin i.c.v. einstellt, bleiben aus.
Subkutane Injektion von 1 mg/kg Naltrexon, 30 Minuten vor ß-Endorphin, vermag dessen Effekt zu verhindern.

Eine Bestätigung für die Einflußnahme endogener Opiate auf männliches Sexualverhalten ist auch Experimenten zu entnehmen, in welchen drei von sechs männlichen Versuchspersonen im Anschluß an Naltrexonverabreichung (50 mg per os) von Dysphorie, sexuellen Zwangsvorstellungen und wiederholten, unwillkürlichen Erektionen berichten (MENDELSON et al., 1979).

Somit dürften Opioidpeptide, unter anderem in Wechselwirkung mit Gonadensteroiden, LHRH, Gonadotropinen, ACTH und MSH, an der Ausprägung männlichen Sexualverhaltens teilnehmen (MEYERSON et al., 1977; MENDELSON et al. 1979;

JACQUET, 1979). In diesem Zusammenhang ist es interessant zu erwähnen, daß Injektion von ACTH ins periaquäduktale Grau bei Ratten genau entgegengesetzte Effekte auslöst, wie ß-Endorphin. Zieht ersteres Angstzustände, Hyperalgesie, Hypermobilität und Hyperthermie nach sich, induziert letzteres Sedation, Analgesie, Katalepsie (Muskelstarre, Fehlen von Spontanmotorik) und Hypothermie (TACHÉ et al., 1977; TESCHEMACHER, 1978; HOLADAY et al., 1978; MOSS et al., 1978; OLSON et al., 1979; JACQUET, 1979; BLÄSIG et al., 1979; LIN et al., 1980; HUIDOBRO-TORO et al., 1980; RILEY et al., 1980). Daneben drücken sich diese gegenteiligen Auswirkungen in vitro auch auf biochemischer Ebene aus: Adenylatcyclasehemmung durch ß-Endorphin, -stimulation durch ACTH. Die Coexistenz der beiden Peptide mit gegensätzlichen Aktionen auf das Verhalten in ein und denselben, zentralnervösen Zellen, läßt JACQUET (1979) vermuten: "... that they participate in a system which normally functions to maintain biobehavioural equilibrium ..."

7. BEDEUTUNG ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSEN-GONADENACHSE WEIBLICHER TIERE — VERSUCHE NACH OVARIEKTOMIE —

7.1. GONADOTROPIN- UND PROLACTINBLUTSPIEGEL NACH OVARIEKTOMIE

7.1.1. Beeinflussung durch Östrogensubstitution

Unterbrechung des hypothalamo-hypophyseo-gonadalen Regelkreises durch Ovariektomie führt zu entfesselter, in etwa stündlichen Intervallen erfolgender LHRH-Entladung, die wiederum erhöhten, durch sägezahnähnliche Oszillationen charakterisierten LH-Blutspiegelverlauf nach sich zieht (Abb. 31). Parallel dazu finden sich basale Serum-Prolactinkonzentrationen in der Zirkulation, die verdeutlichen, daß die Prolactin- im Gegensatz zur Gonadotropinsekretion einer negativen Feedbackeinwirkung seitens der Gonadensteroide entbehrt, also auf Kastration nicht mit Enthemmung antwortet (Abb. 32).

Östradiolsubstitution bei ovariektomierten Ratten bewirkt einerseits Inhibition der circhoralen LH-Rhythmik, andrerseits anhaltende Unterdrückung der Gonadotropinausschüttung, die an drei bis vier aufeinanderfolgenden Tagen, jeweils um 17.00 Uhr, von einem proöstrusähnlich auftretenden LH-(und FSH-) Anstieg unterbrochen wird (Abb. 31). Der Prolactinspiegel zeichnet ein ähnliches Muster, das allerdings — neben dem zur Zeit des positiven Östrogen-Feedback beobachteten, nachmittäglichen Gipfel — absolute Anhebung der Basallinie aufweist (Abb. 32).

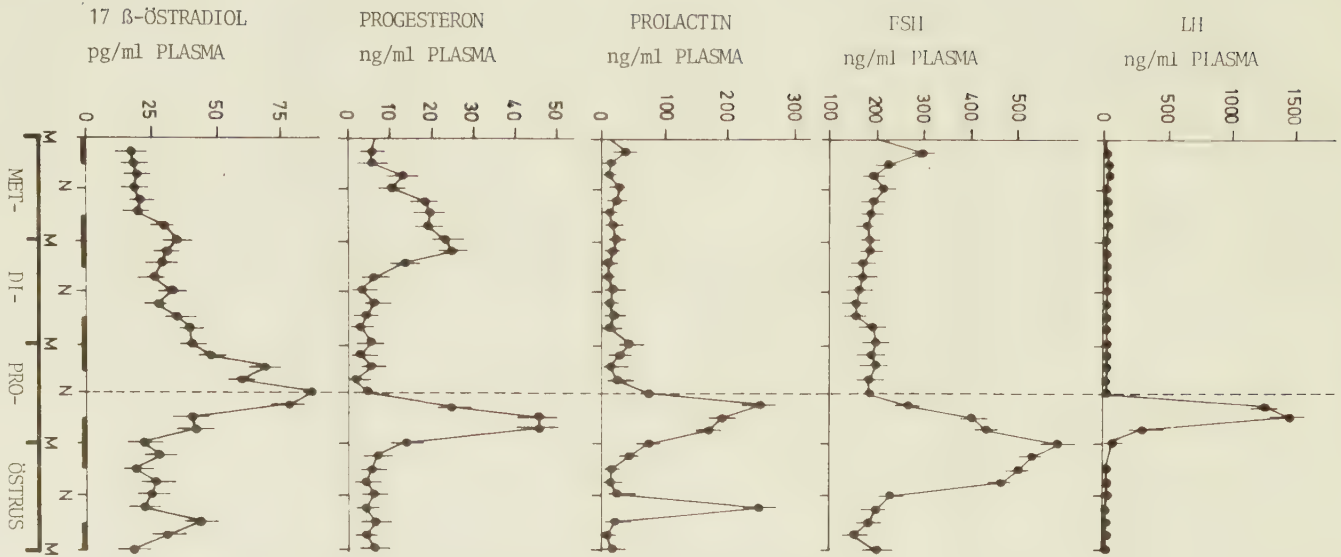


Abb. 30: Mittlere Plasmakonzentrationen von LH, FSH, Prolactin, Progesteron und 17 ß-Östradiol während des viertägigen Östruszyklus der Ratte (n = 5 für jeden Punkt).

M = Mitternacht; N = Mittag; ▬ = Dunkelheit;

(nach BUTCHER et al., 1974)

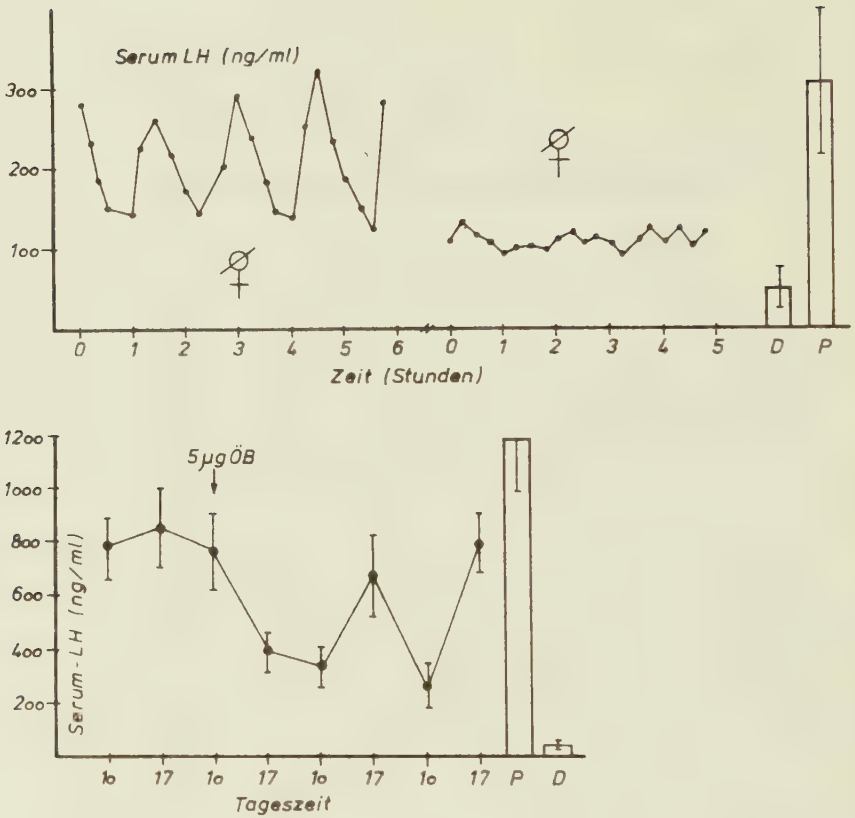


Abb. 31: (nach WUTTKE, 1980)

oben: Unterdrückung des sägezahnähnlichen, circhoralen LH-Spiegelverlaufsmusters (links) ovariektomierter Ratten durch Östradiolbenzoatapplikation (rechts).

unten: Vor- und nachmittägliche LH-Serumspiegel ovariektomierter Ratten vor und nach Östradiolbenzoatinjektion.

Abb. 32: Auswirkung von Östradiolbenzoat auf das tägliche Prolactinspiegelverlaufsmuster ovariektomierter Ratten. (nach WUTTKE, 1980)

Der strenge 24-Stunden-Takt wird als Demonstration des, dem Östruszyklus der Ratte (Abb. 30) eigentlich zugrunde liegenden, "circadianen Rhythmus" gewertet,und unterstreicht die zumindest bei dieser Tierart außerordentlich bedeutsamen Verknüpfungen der,für die Gonadotropinsekretionskontrolle verantwortlichen, hypothalamischen Stellen mit übergeordneten neuralen Systemen, deren Impulsaussendung u.a. in Abhängigkeit von täglichen Schwankungen im Hell-Dunkel-Muster geschieht. Wird der die "kritische Periode" aufbauende Tagesrhythmus bei intakten, weiblichen Ratten aufgrund des nur alle vier (bis fünf) Tage, d.h. im Proöstrus, auftretenden, aber für die Auslösung des LH-Peak letztendlich ausschlaggebenden "Steroidenvironment"

verschleiert, so enthüllt er sich bei ovariektomierten Tieren, denen "künstlich die entsprechende Steroidsituation mitgegeben" wird.

7.1.2. Einfluß von Östrogen- und Progesteronsubstitution

Progesteroninjektion nach Östrogenvorbehandlung verstärkt zwar den LH-Anstieg des 1. Tages, verhindert jedoch das Auftreten weiterer LH-Gipfel in den nächsten Tagen. So wird Östrogen als das Stimulans angesehen, das den "neuralen Signalkreis einschaltet", der den täglichen LH-Surge auslöst, wohingegen Progesteron den "Unterbrecher" darstellt. Dabei hemmt es vermutlich nicht direkt das neurale Signal für den östrogeninduzierten LH-Peak, sondern wirkt auf den Hypothalamus ein, indem es ihn unfähig macht, auf das Zeichen hin mit entsprechend hoher LHRH-Freisetzung zu antworten.
In diesem Zusammenhang ist einmal festzuhalten, daß im Östruszyklus der Ratte (Abb. 30) ansteigende Serum-Progesteronkonzentrationen in Verbindung mit hohen Östrogenspiegeln offensichtlich zunächst die Voraussetzung für die Induktion des preovulatorischen LH-Surge ("Priming-Effekt") schaffen, bevor sie in ihre, den positiven Östrogen-Feedback antagonisierende Rolle einmünden, andrerseits bei dieser Spezies die Nebennieren eine außerordentlich wichtige Progesteronquelle bilden. Diese Tatsachen

spiegeln sich darin, daß Östrogen bei ovariektomierten Ratten zwar in der Lage ist, LH-Peaks zu bewirken, nach zusätzlicher Adrenalektomie aber der Effekt ausbleibt, wenn keine Progesteronsubstitution stattfindet (MANN et al., 1973; BUTCHER et al., 1974; LEGAN et al., 1975; LÖFSTRÖM et al., 1977; WUTTKE et al., 1978; 1980; WUTTKE, 1980).

7.2. ENDOGENE OPIATE BEI OVARIEKTOMIERTEN TIEREN

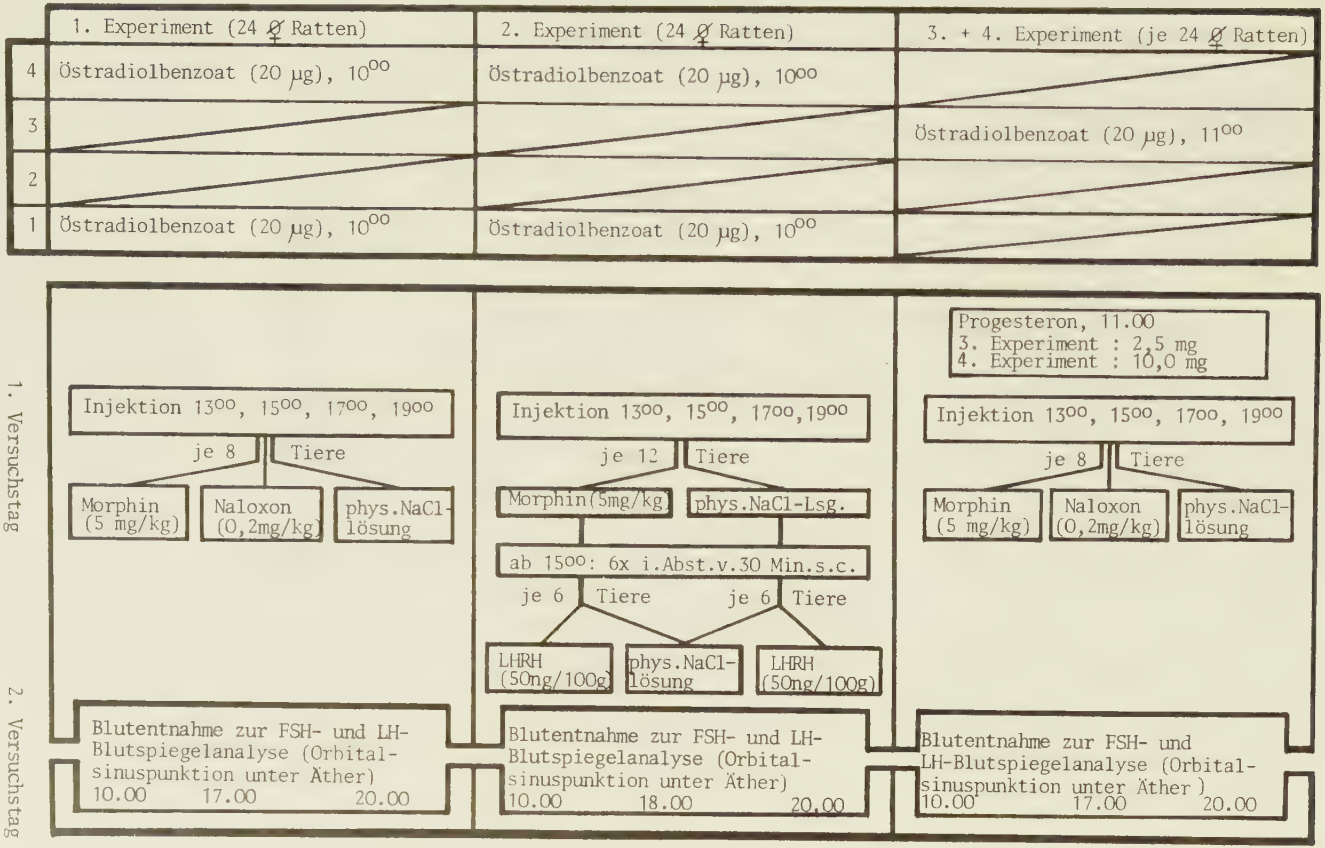
Es ergibt sich nun die Frage, ob und inwieweit endogene Opiate bei der Ausprägung dieser Phänomene mitspielen. Eine Reihe von Hinweisen erbrachten Untersuchungen des Morphin- und Naloxoneinflusses auf die Gonadotropinfreisetzung in ovariektomierten, östrogen- bzw. östrogen-progesteronvorbehandelten Ratten (SYLVESTER et al., 1980). Vier Wochen vor Beginn der Experimente wurden die Tiere ovariektomiert und einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 14:10 Stunden (Licht von 5.00 - 19.00 Uhr) ausgesetzt. Tabelle 14 gibt Auskunft über die von SYLVESTER et al. (1980) gewählte Versuchsanordnung.

Es zeigen sich folgende Resultate:

1. Experiment: Während bei den östrogenvorbehandelten Kontrolltieren (physiol. NaCl-Lösung) an beiden Versuchstagen um 17.00 Uhr der typische LH-Peak zu beobachten ist, wird dieser am 1. Tag durch Morphin völlig blockiert, dagegen durch Naloxon signifikant erhöht. Der 2. Tag demonstriert einen umgekehrten Trend: morphinbehandelte Tiere sprechen mit ausgeprägtem "Rebound"-LH-Peak an, die Naloxongruppe entbehrt eines LH-Anstiegs (Abb. 33a). FSH verhält sich bei den Kontrolltieren ähnlich wie LH. Morphin verhindert die FSH-Erhöhung am 1. Tag, Naloxon zeigt keine Abweichung von der Kontrolle. Der 2. Tag bringt die entgegengesetzte Situation.

2. Experiment: Die Kontrolltiere (NaCl-NaCl) führen

Tabelle 14: Untersuchung der Effekte von Morphin und Naloxon auf die Gonadotropinfreisetzung in östrogenvorbehandelten Ratten, vier Wochen nach Ovariektomie — Schematische Darstellung der von SYLVESTER et al. (1980) gewählten Versuchsanordnung —



wieder an beiden Tagen den für östrogenvorbehandelte, ovariektomierte Ratten typischen LH-Anstieg vor; die Morphin-NaCl- bietet ein der Morphingruppe im 1. Experiment entsprechendes Bild. Auf Morphin und LHRH reagiert der LH-Spiegel am 1. Tag mit ganz erheblichem Anstieg, der etwa der Antwort auf NaCl-LHRH entspricht. Am 2. Tag bringt Morphin-LHRH wiederum sehr deutliche LH-Erhöhung, NaCl-LHRH dagegen ahmt den Kontroll-Peak nach (Abb. 33b). FSH zeigt zwar in allen Fällen einen ähnlichen Trend wie LH, doch ist das Ausmaß der Veränderungen insgesamt geringer ausgeprägt.

3. und 4. Experiment: Verglichen mit den östrogen-östrogen-, weisen die östrogen-progesteron- (2,5 mg) vorbehandelten Kontrolltiere am 1. Tag einen ca. dreimal so hohen LH-Peak auf, wohingegen am 2. Tag kein LH-Anstieg mehr zu verzeichnen ist. Die Naloxon- schließt sich am 1. und 2. Tag der Kontrollgruppe an. Morphin jedoch blockiert den LH-Surge am 1. Tag völlig und produziert am 2. Tag einen starken "Rebound"-LH-Peak (Abb. 33c). Nach Applikation von 10 mg Progesteron ändert sich das Bild nur insofern, als der "Rebound"-LH-Peak der Morphingruppe am 2. Tag ausbleibt. Auch in diesen Fällen ist das FSH-Echo ähnlich, aber, verglichen mit LH, schwächer.

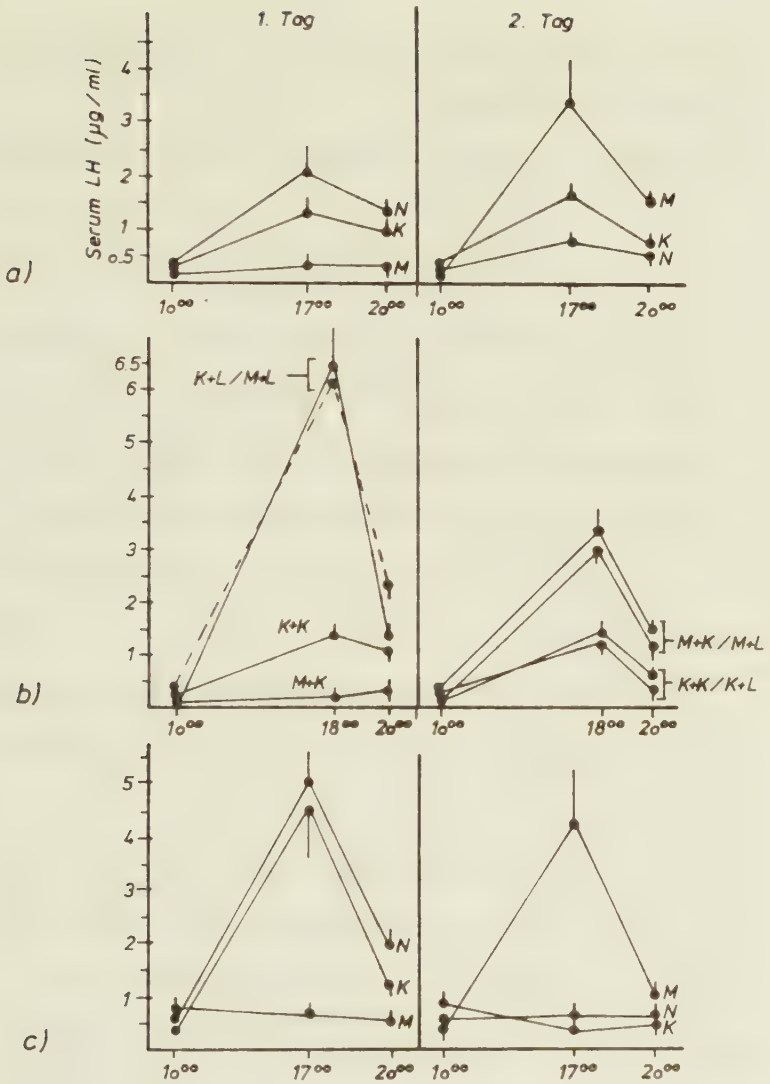


Abb. 33: (nach SYLVESTER et al., 1980)

a: Effekte von Morphin (M) und Naloxon (N) auf den täglichen LH-Peak östrogenvorbehandelter, ovariektomierter Ratten (Kontrolle (K) : phys. NaCl-Lösung).

b: Effekte von Morphin und LHRH (L) bzw. phys.NaCl-Lösung und LHRH auf den täglichen LH-Peak östrogenvorbehandelter, ovariektomierter Ratten (Kontrolle: NaCl+NaCl; Morphin+NaCl)

c: Effekte von Morphin und Naloxon auf den "LH-Peak des 1. Tages" in östrogen-progesteronvorbehandelten, ovariektomierten Ratten.

Zusammenfassend leiten SYLVESTER et al. (1980) aus ihren Ergebnissen folgendes ab:

1. Morphin wie Naloxon können bei ovariektomierten Ratten die Ausprägung des östrogeninduzierten, täglichen LH-Peak nicht nur am Tag ihrer Verabfolgung, sondern auch noch am nächsten Tag beeinflussen.
2. Bei östrogen-progesteronvorbehandelten Tieren verhindert Morphin einmal den potenzierten LH-Surge des 1. Tages, und wirkt zudem — am 1. Tag injiziert — dem hemmenden Progesteroneinfluß auf die Gonadotropinfreisetzung am 2. Tag entgegen. Letzterer Antagonismus erweist sich als dosisabhängig, da höhere Progesterongaben in der Lage sind, den Morphineffekt des 2. Tages zu überwinden.
3. Die FSH-Reaktion auf Morphin und Naloxon zeigt jeweils ähnliche Trends wie LH, wenn auch insgesamt von geringerer Intensität.

Bei vergleichender Betrachtung aller ermittelten Daten halten es die Autoren für unwahrscheinlich, daß sich die Effekte von Morphin und Naloxon am 2. Tag einfach von dem für die Gonadotropinausschüttung verfügbaren Pool der Hypophyse herleiten. Zwar sei es denkbar, daß der Morphinblock des 1. Tages zu einer Gonadotropin-Speicherauffüllung der Hypophyse führe, und somit am 2. Tag das beobachtete Ausmaß des Rebound-Peak auftreten könne. Ein Widerspruch liege jedoch darin begründet, daß bei den Morphin-LHRH-Ratten, trotz des hohen Anstiegs am 1. Tag,

noch genug Gonadotropin-Kapazität vorhanden ist für die morphintypische, ausgeprägte LH-Erhöhung am 2. Tag. Entsprechend sei der nach Naloxon am 2. Tag zu beobachtende Gonadotropin-Surgeblock, der auf den potenzierten LH-Anstieg des 1. Tages folgt, nicht als Ausdruck entleerter Speicher zu interpretieren. Diesbezüglich müsse berücksichtigt werden, daß bei NaCl-LHRH-Ratten, ungeachtet eines wesentlich höheren LH-Peak am 1. Tag, der Gipfel am 2. Tag nicht ausbleibt. Angesichts dieser Überlegungen sei der Schluß zu ziehen, Morphin und Naloxon entfalteten ihre Wirkung auf den Gonadotropinspiegel nicht über eine Beeinflussung der Hypophysenkapazität, sondern eher aufgrund zentraler Effekte auf das tägliche Surge-Signal.

Zur "Anti-Speichertheorie" von SYLVESTER et al. (1980) ist anzumerken, daß aufgrund der selten erfolgten Blutentnahmen kein umfassender Eindruck des Gonadotropinspiegelverlaufs gewonnen wird. Peaks oder Pseudopeaks werden wohl vermerkt, aber Plateauphasen, wie sie etwa nach LHRH-Infusion oder Applikation hoher Dosen zu beobachten sind, Frequenz- und Amplitudenschwankungen im "episodic release" der Gonadotropine können nicht verfolgt, und damit wirklich kapazitätsbelastende Sekretionsmengen nicht erfaßt werden. Das bedeutet, daß, um die Theorie zu stützen, die Experimente entweder auf eine weit größere Versuchstierzahl ausgedehnt, oder an anderen Spezies, die häufigere Blutentnahme erlauben, durchgeführt werden

müßten. Zum anderen darf nicht außer acht gelassen werden, daß LHRH nicht nur die Gonadotropinfreisetzung von Hypophysenzellen stimuliert, sondern diese offensichtlich auch zu gesteigerter Neusynthese von LH und FSH anregt. So gesehen ist es möglich, daß die nach LHRH registrierte, insgesamt wesentlich höhere Gonadotropinausschüttung unter anderem das Resultat vermehrter Synthese darstellt. Daß der Kapazität des Gonadotropinpool eine Beschränkung auferlegt ist, demonstriert die Wirkung einer LHRH-Dauerinfusion: Auf 2-3 Stunden Plateau folgt — trotz weiterer Infusion — ein Abfall des LH-Spiegels (SHARP et al., 1978).

Der Versuch einer Interpretation der Ergebnisse der von SYLVESTER et al. (1980) an ovariektomierten Ratten durchgeführten Experimente gestaltet sich durchaus plausibel, wenn man von folgenden arbeitshypothetischen Voraussetzungen ausgeht:

a) Östrogene entfalten ihren negativen Feedbackeinfluß auf die LHRH-Freisetzung über Stimulation endogener Opiate.
b) Der positive Östrogen-Feedbackeffekt auf die LHRH-Sekretion läuft nicht unter direkter Einbeziehung endogener Opiate ab, ist jedoch dem modulierend-hemmenden Eingreifen dieser Stoffe ausgesetzt.
c) Progesteron entwickelt seine Hemmwirkung auf das LH-Surge-Signal, und damit auf den positiven Östro-

gen-Feedback, über Stimulation opioiderger Mechanismen, während es antagonistische Wirkung gegenüber dem negativen Östrogen-Feedback opioidunabhängig ausübt.

Östrogenvorbehandelte, ovariektomierte Ratten:

Applikation von Östrogenen an ovariektomierte Ratten führt zunächst zur Unterdrückung der Gonadotropinfreisetzung, d.h. zu einer Rückführung zu Serumkonzentrationen, vergleichbar mit den bei intakten, weiblichen Tieren meßbaren Basalwerten. Hiermit schaffen Östrogene kraft ihrer negeativen Feedbackaktion die nötige Gonadotropinschwelle für die "Zündung" ihres positiven Feedbackmechanismus, also für die Auslösung des täglichen LH-Peak. Zum Zeitpunkt der Verabreichung von Morphin und Naloxon ist diese Voraussetzung bereits gegeben.

Morphin ist am 1. Tag in der Lage, den LH-Surge zu blokkieren, indem es — möglicherweise Opiatrezeptoren besetzend, die sonst im Rahmen der hemmenden Progesteronwirkung zum Tragen kommen — die durch den positiven Östrogen-Feedback induzierte LHRH-Freisetzung verhindert. Alle anderen östrogenvermittelten Mechanismen, die die "erwartete" LHRH-Wirkung normalerweise potenzieren würden, wie Erhöhung der Hypophysen-Ansprechbarkeit auf LHRH oder Stimulation der Gonadotropinsynthese, laufen unberührt von Morphin ab. Wenn dann am 2. Tag der Morphinblock wegfällt — vergleichbar dem plötzlichen "Lifting" eines Progesteronhemmeffektes bei genügend hohen Östrogenspiegeln — entlädt sich das ganze System zum "Rebound-Surge".

Naloxon provoziert am 1. Tag einen stärkeren LH-Anstieg als die Kontrollgruppe. Dieser könnte auf die Aufhebung einer, durch endogene Opiate im Rahmen des negativen Östrogen-Feedback ausgeübten, tonischen Hemmung der Gonadotropinfreisetzung zurückzuführen sein. Demnach tritt zur Entladung der LHRH-Neurone, die dem Surge-Signal gehorchen, noch die Entladung derjenigen, die der Kontrolle durch den negativen Östrogen-Feedback unterstehen: Die Hypophyse reagiert entsprechend mit erhöhter Gonadotropinausschüttung. Das Ausbleiben des LH-Peak am 2. Tag wäre dann damit zu erklären, daß durch die — über die Dauer der Naloxonwirkung erfolgende — Aufhebung des negativen Feedback dem System die Voraussetzung genommen wird, rechtzeitig, d.h. noch innerhalb der "kritischen Periode" des 2. Tages, auf das Peak-Signal zu reagieren. Die Situation mag also ähnlich sein, wie unmittelbar nach Östrogenapplikation (Vgl. Abb. 31), wo erst der "Aufbau" des negativen Feedback die Grundlage für die Ansprechbarkeit auf das Signal schaffen muß. Am 3. Tag wäre unter den gegebenen Umständen wieder ein LH-Peak zu erwarten.

LHRH-Applikation bei östrogenvorbehandelten, ovariektomierten Ratten:

Exogenes LHRH trifft auf ein durch den Feedbackeinfluß der Östrogene ohnehin schon stimuliertes System, in dem die Hypophysenansprechbarkeit auf LHRH erhöht ist, und

bewirkt eine erhebliche Steigerung der Gonadotropinausschüttung. Gleichzeitig regt es, somit einer möglichen "Kapazitätsüberlastung" vorbeugend, die Neusynthese an, so daß am 2. Tag ein typischer Surge auftreten kann.

Nach LHRH und Morphin zeigt sich am 1. Tag ein LH-Anstieg, vergleichbar dem nach LHRH. Während Morphin die Freisetzung von endogenem LHRH wieder blockiert, ist das exogene hoch genug dosiert, eine maximale Wirkung zu erzielen und gleichzeitig die Hypophyse zur Gonadotropinsynthese zu stimulieren. Am 2. Tag ist es dann das endogene LHRH, das den Rebound-Surge auslöst.

Östrogen-progesteronvorbehandelte, ovariektomierte Ratten: Progesteronapplikation erzeugt bei östrogenvorbehandelten, ovariektomierten Tieren eine Situation, ähnlich der im Proöstrus intakter, weiblicher Ratten, potenziert am 1. Tag den LH-Gipfel noch, um schließlich seine Hemmwirkung auf das tägliche Surge-Signal — nach gewisser, prägender Latenzzeit — am 2. Tag zum Tragen kommen zu lassen (Vgl. Abb. 30). Warum am 1. Tag eine deutliche Erhöhung des LH-Peak verursacht wird, ist bisher nicht sicher zu begründen. Möglicherweise greift Progesteron — seine östrogenantagonisierende Wirkung aufbauend — zunächst am Ort des negativen Östrogen-Feedback ein ("Priming"), dadurch die Gonadotropinsekretion initial steigernd, bevor es nach längerer "Anlaufzeit" fähig ist, auch dem positiven Östrogeneffekt hemmend zu begegnen.

Wenn der positive Östrogen-Feedback opioidunabhängig abläuft, von Progesteron außerdem am 1. Tag noch nicht —unter Einschaltung endogener Opiate— wirksam gehemmt wird, und zudem der opioidvermittelte, negative Östrogen-Feedback durch Progesteron bereits eine "Lockerung" erfahren hat, trifft Naloxon am 1. Tag in keinem dieser Bereiche auf Opiatrezeptoren, deren Blockierung eine deutlich registierbare Änderung der Gonadotropinsekretion herbeiführen könnte: Naloxon bewirkt am 1. Tag keine Abweichung von der Kontrolle. Am 2. Tag, wenn Progesteron —über Induktion endogener Opiate— das Surge-Signal unterbricht, ist Naloxon nicht mehr in genügender Konzentration im Organismus vorhanden, um noch einen Effekt zu zeigen: Wieder verläuft die LH-Kurve entsprechend der bei Kontrolltieren.

Genau umgekehrt verhält es sich am 1. Tag mit Morphin. Es besetzt sowohl die Rezeptoren, über die endogene Liganden den negativen Östrogen-Feedback vermitteln — hält also diesen gegenüber dem Progesteroneinfluß aufrecht — , als auch die Opiatbindungsstellen, die im Rahmen der signalunterbrechenden Progesteronwirkung von Bedeutung sind, und verlegt somit den Progesteroneffekt des 2. Tages vor: Der LH-Gipfel fällt aus. Am folgenden Tag äußert sich das Fehlen von Morphin gleich dem plötzlichen Wegfall einer hemmenden Progesteronaktion in Gegenwart ausreichend hoher Östrogenspiegel. Demgegenüber ist die verabreichte Progesterondosis (2,5 mg) nicht in der Lage,

sich durchzusetzen, zumal auch der negative Östrogen-Feedback weitgehend "funktionstüchtig" geblieben,also ein günstiger LH-Schwellenwert für die Auslösung des Surge-Signals vorhanden ist: Rebound-LH-Peak. Dagegen vermögen 10 mg Progesteron diesen Effekt zu überwinden.

Um diese Hypothesen zu stützen, müßten die Experimente auch auf die folgenden Tage ausgedehnt werden. Zudem wäre es interessant, auf der Grundlage häufigerer Blutentnahmen ein genaueres Bild über den Verlauf der LH-Spiegelveränderungen zu erhalten.

Im Rahmen einer Versuchsreihe zur Prüfung der Beeinflußbarkeit der Prolactinsekretion durch Opiatantagonisten in Situationen erhöhter Prolactinbasalspiegel wählte GRANDISON (GRANDISON et al., 1977) unter anderem gonadektomierte, östrogenvorbehandelte Tiere aus (Vgl. Abb. 31). Es zeigte sich, daß weibliche Ratten, die 4 Wochen nach Ovariektomie über 5 Tage mit Östradiolbenzoat (5 µg) vorbehandelt wurden, auf Naltrexonapplikation (0,25; 1,0; bzw. 5,0 mg/kg i.p.) mit signifikantem, im Grad dosisabhängigem Abfall (48; 57 bzw. 67%) des Serum-Prolactingehaltes reagieren.

8. PREPUBERTALE ZEIT UND PUBERTÄT

8.1. HEUTIGE VORSTELLUNGEN VON DEN EREIGNISSEN, DIE ZUR SEXUELLEN REIFE FÜHREN

Insgesamt gesehen, vollziehen sich die an der Entwicklung der Fortpflanzungsfähigkeit des gesunden Individuums mitspielenden, endogenen Vorgänge, sei es im Hinblick auf den zeitlichen Ablauf, auf die Sequenz der Ereignisse, auf das Einpendeln der entsprechenden Serumhormonkonzentrationen, auf das Manifestwerden der Kontrollsysteme oder auf die Faktoren, die letztlich zur Auslösung der Pubertät beitragen, unter zum Teil erheblichen geschlechts- und speziesspezifischen Variationen. Im Folgenden soll am Beispiel der weiblichen Ratte auf die wesentlichsten Punkte der Ereigniskette eingegangen werden, an deren Ende die sexuelle Reife steht.

Bereits während der embryonalen Entwicklung kommt es zur zunehmenden Innervation der Eminentia mediana mit LHRH-Nervenendigungen und entsprechend schon sehr bald im fetalen Leben zur Ausschüttung von Gonadotropin-Releaserhormon. Während zu dieser Zeit der Serum-Gonadotropinspiegel in die Höhe klettert, erfährt er durch Anwesenheit maternaler Steroide schließlich eine Depression: Die neurale Basis für den steroidinduzierten, negativen Feedbackmechanismus wird geschaffen. Geschlechtsspezifische Veränderungen im Gehirn, vornehmlich im Bereich der Area preoptica, die offenbar die neurale Grundlage für

den positiven Östrogen-Feedback bilden, können bei weiblichen Ratten im Alter von zwei bis fünf Tagen morphologisch wie funktionell demonstriert werden: Wird den Tieren während dieser "kritischen" Zeit nur einmal Testosteron verabfolgt, bleiben diese Differenzierung, das Auftreten eines positiven Östrogen-Feedback und folglich zyklische Ovartätigkeit aus.

Durch den Wegfall mütterlicher Steroide post partum schnellt die Gonadotropinsekretion beim Neugeborenen zunächst hoch, die Steroidogenese in den Gonaden wird angeregt, der negative Feedbackeffekt gewinnt zusehens an Boden, um bis zum Alter von ca. 5-10 Tagen grundsätzliche Funktionsfähigkeit zu erlangen. Etwa ab dem 3. Lebenstag zunehmend in die Zirkulation gelangende Gonadensteroide finden sich jedoch vorerst mehr und mehr an ein spezifisches, östradiolbindendes Protein (α-Fetoprotein) gekoppelt wieder, das vom 5. zum 10. Tag im Plasma stark ansteigt, bis nach der 2. Lebenswoche auf hohem Niveau verharrt und schließlich — schrittweise zur 3. Woche hin absinkend — nach dem 20. bis 25. Tag kaum noch nachweisbar ist. Ab diesem Zeitpunkt entfaltet dann nahezu der gesamte Steroidgehalt im Serum biologische Aktivität und daher mächtige negative Feedbackwirkung. Hand in Hand damit und parallel zu den ansteigenden Plasma-Progesteronwerten kommt es zum raschen Absinken des vormals in beträchtlicher Höhe angetroffenen FSH-Spiegels, dem neben modulierender Einflußnahme auf die Periode der höchsten Atresierate (10. - 18. Tag),

prägende Funktion für die spätere Reifungsfähigkeit der Follikel zugesprochen wird. Begleitet von deutlichem Sensibilitätsverlust der Hypophyse gegenüber LHRH endet das Auftreten "unreifer, preovulatorischer LH-Peaks" (10. - 20. Tag) in diesem Stadium, wo zunehmende Östrogenwirksamkeit sich nicht zuletzt in anwachsendem Serum-Prolactin (20. - 30. Tag) widerspiegelt, das, die Formation ovarieller LH-Rezeptoren katalysierend, wesentlichen Beitrag zur Ovarreifung leistet und daneben offenbar wachsenden Rückkopplungseffekt auf die am Sexualgeschehen beteiligten, dopaminergen Systeme — möglicherweise eine Zunahme LHRH-Neurone stimulierender, dopaminerger Terminalien induzierend — ausübt. Gleichzeitig schnellt der preoptische Noradrenalin-Turnover in die Höhe, und der LHRH-Gehalt im Hypothalamus erreicht einen erneuten Peak, nachdem er — um den 10. bis 15. Tag hohen Level innehabend — vom 15. bis 22. Tag auf niedrigem Niveau gestanden hatte. Jetzt mag die prepubertal langsam steigende LHRH-Sekretion (26. - 28. Tag) vermehrt trophischen Effekt auf hypophysäre Gonadotrope ausüben und so zu einer wieder deutlicher werdenden (28. - 35. Tag) Hypophysenansprechbarkeit auf LHRH beitragen.

In diesem Zeitraum leitet sich auch die Adrenarche ein, eine Phase gesteigerter Steroidsekretion (Östron, Androstenedion) durch die Nebenniere, die zumindest teilweise auf die erhöhten Prolactin- (und ACTH-) Serumkonzentrationen zurückgehen dürfte.

Während die prematuren, nachmittäglichen, starken individuellen Schwankungen unterliegenden LH-Peaks im Alter von 10 bis 20 Tagen offenbar das Substrat des sich — unter zunächst relativ lockerem, negativem Östrogen-Feedback — entwickelnden, positiven Steroid-Rückkopplungsmechanismus darstellen, zeigt ihr Sistieren die zunehmende Macht des negativen Feedback an, der, basierend auf weit unter den bei Erwachsenen anzutreffenden, freien Plasma-Steroidkonzentrationen, vor Erlangung der sexuellen Reife von wesentlich höherer Effektivität, als nach dem Einsetzen der Pubertät ist. Obwohl bereits um den 25. Lebenstag der sogenannte Hohlweg-Effekt ausgelöst, d.h. im Gefolge hochdosierter Östrogenapplikation erstmals Ovulation mit Corpus-luteum-Bildung beobachtet und demnach auf volle Funktionsfähigkeit des positiven Feedback geschlossen werden kann, setzt die Pubertät unter physiologischen Bedingungen nicht vor dem 38. bis 42. Tag ein.

Zusammenfassend lassen sich die für die Pubertätsinduktion letztlich ausschlaggebenden Faktoren wie folgt aufreihen:

1. Verschiebung des "Gleichgewichtes" zu Ungunsten des, über Hemmung catecholaminerger Mechanismen erfolgenden, negativen Steroid-Feedback durch Zunahme stimulierender, in synaptischem Kontakt mit LHRH-Neuronen stehender, dopaminerger Nervenendigungen;

2. Desensibilisierung des Hypothalamus gegenüber der mächtigen, negativen Gonadensteroid-Rückkopplungsaktion kraft ansteigender Nebennierensteroidausschüttung;
3. Aus- bzw. Umschaltung diffuser, inhibitorischer Nervenbahnen, die, von übergeordneten Zentren (Amygdala, Hippocampus, Striatum?) ausgesandt, in den rostralen Hypothalamus — eventuell in Kontakt zu noradrenergen Axonen tretend — einlaufen;
4. Erhöhung der LHRH-Sekretion, verbunden mit reetablierter Hypophysenansprechbarkeit auf LHRH, sowie gesteigerter Gonadensensibilität gegenüber LH und FSH

(HOHLWEG, 1934; RUF, 1973; MEIJS-ROELOFS et al., 1973; 1975; GRUMBACH et al., 1974; DÖCKE et al., 1974; RAMALEY, 1974; SHERWOOD et al., 1974; RAISMANN, 1974; COLLU et al., 1975; MAcKINNON et al., 1976; WUTTKE et al., 1976; 1978; 1980; LÖFSTRÖM et al., 1977; HÖHN et al., 1978a und b; 1979; SHARP et al., 1978; HUTCHINSON, 1978; EVERETT, 1978; LINCOLN, 1978; HONMA et al., 1979; GRIFFITHS et al., 1979).

8.2. OPIOIDE, PREPUBERTALE GONADOTROPINSEKRETION UND STEROID-FEEDBACKAKTION

Nachdem sich die Anzeichen für eine Beteiligung endogener Opiate an der Regulation der Gonadotropin- und Prolactinsekretion — eventuell in Verknüpfung mit steroidvermittelten Mechanismen — gemehrt hatten, lag die Vermutung nahe, daß in den verschiedenen Stadien des sexuellen Reifungsprozesses ebenfalls opioidinduzierte Vorgänge nachweisbar sein müßten.

Deshalb wählten BLANK et al. (1979) für ihre Studien männliche und weibliche Ratten im Alter zwischen 10 und 50 Tagen, um prepubertale Zeit und Pubertät zu erfassen, sowie adulte Tiere (60 Tage) und prüften die Wirkung des Opiatantagonisten Naloxon auf den LH-Serumspiegel in den diversen Entwicklungsabschnitten. An adulten Weibchen untersuchten sie außerdem die Naloxonwirkung in allen vier Zyklusstadien.

Fast gleichzeitig unternahmen auch IEIRI et al. (1979) Experimente an prepubertalen Ratten beiderlei Geschlechts, um den Naloxoneffekt auf LH und Prolactin bei Tieren vor Erlangung der sexuellen Reife zu testen.

In Tabelle 15 sind die wesentlichsten Unterschiede in den Versuchsbedingungen der zwei Arbeitsgruppen hinsichtlich der Naloxon-LH-Tests aufgeführt. Einen Vergleich der Ergebnisse für die von beiden Teams untersuchten Altersstufen liefert Tabelle 16. Insgesamt zeigen die Resultate

Tabelle 15: Versuchsbedingungen zur Prüfung des Naloxonenflusses auf die LH-Serumkonzentration in verschiedenen Stadien der sexuellen Reifung bei Ratten beiderlei Geschlechts:

	IEIRI et al. (1979)	BLANK et al. (1979)
Zahl der Versuchstiere je Altersstufe und Geschlecht (Zahl der Kontrolltiere entsprechend)	6	4 - 8
Haltungsbedingungen der Tiere - Hell-Dunkel-Rhythmus (Licht an) - Temperatur	14 : 10 (5^{00}) 24 ± 1^{0} C	14 : 10 (7^{00}) 21 ± 1^{0} C
Untersuchte Altersgruppen (Lebenstage)	10/15/20/25/30	10/15/18/20/22/24/26 28/30/35/40/45/50/60
Naloxondosis und Applikationsart	2 mg/kg KGW s.c.	2,5 mg/kg KGW s.c.
Zeitpunkt der Naloxonverabreichung	zwischen 16^{00}-17^{00}	zwischen 12^{15}-13^{15}
Zeitpunkt der Dekapitation post iniectionem	30 Minuten	15 Minuten
LH-Bestimmung	RIA (NIAMDD)	RIA (NIAMDD)
Signifikanz der Abweichungen	$p < 0,05$	$p < 0,05$

gute Übereinstimmung. Da von BLANK et al. (1979) wesentlich mehr Altersgruppen in die Experimente einbezogen wurden, soll im folgenden Abschnitt die Situation primär anhand seiner Daten aufgerollt werden. Auf Abweichungen seitens der von IEIRI et al. (1979) getroffenen Beobachtungen wird jeweils an entsprechender Stelle hingewiesen.

Weibliche Tiere: Im Alter von 10 und 15 Tagen demonstrieren naloxonbehandelte Tiere eine vier- bis neunfache Steigerung der basalen Serum-LH-Konzentration, wohingegen Naloxon bei 18 und 20 Tage alten Ratten einer signifikanten Wirkung entbehrt. Allerdings registriert IEIRI bei letzteren bereits einen deutlichen LH-Surge. Mit 22, 24 (sowie 25, bei IEIRI) und 26 Tagen reagieren die Tiere auf den Opiatantagonisten mit vier-, fünf- und siebenfacher LH-Konzentrationsanhebung, während sich LH im Alter von 28 und 30 Tagen als naloxonrefraktär erweist. Im Kontrast dazu vermerkt IEIRI bei 30 Tage alten Weibchen einen naloxoninduzierten LH-Anstieg. Ab dem 35. Tag —als Zeitpunkt der Vaginalöffnung ermittelten BLANK et al. (1979) den Tag 36,4 x 1,7 (Standardabweichung bei n = 23) — spricht der LH-Spiegel bis zum 50. Tag wieder mit signifikanter, drei- bis vierfacher Erhöhung auf Naloxon an. Dagegen verhält er sich bei Adulten (60 Tage) über alle vier Zyklustage hinweg neutral gegenüber Naloxon.

Männliche Tiere: Lediglich bei 40 und 45 Tage alten Ratten stellt sich ein signifikanter, ca. zwei- bis dreifacher LH-Anstieg auf Naloxonapplikation hin ein, wie er

ähnlich auch bei adulten Tieren (60 Tage) durch den Opiatantagonisten auszulösen ist. Im Gegensatz dazu verzeichnet IEIRI bereits bei Männchen im Alter von 30 Tagen eine signifikante LH-Antwort auf Naloxon.

Um Hinweise darauf zu erhalten, inwieweit die Höhe des jeweiligen Östrogenspiegels an der Modifizierung der LH-Reaktion auf Naloxon bei prepubertalen Tieren beteiligt ist, injizierte BLANK (BLANK et al., 1979) 12 weiblichen Ratten am 22. und 23. Lebenstag je 1 µg Östradiolbenzoat. Entsprechende Kontrolltiere wurden mit der öligen Trägerlösung allein behandelt. Eine dritte Gruppe erhielt Östradiolbenzoat nur am 23. Tag. Am 24. Tag wurde jeweils der Hälfte jeder Gruppe Naloxon (2,5 mg/kg s.c.) bzw. physiologische Kochsalzlösung appliziert. Während der Opiatantagonist bei Kontrolltieren einen vierfachen LH-Anstieg provoziert, bleibt unter Östradiolbehandlung ein Naloxoneffekt auf LH aus.

Einen weiteren Aspekt riefen IEIRI et al. (1979) auf den Plan, indem sie Morphin auf eine LH-beeinflussende Wirkung bei juvenilen Ratten prüften. Die Versuchsanordnung war entsprechend der für Naloxon gewählten (vgl. Tabelle 15), die Dosis lag bei 2 mg Morphinsulfat/kg KGW. Es offenbart sich, daß Morphin lediglich bei 15 Tage alten Tieren —Männchen wie Weibchen — einen signifikanten Abfall des LH-Spiegels induziert.

Tabelle 16: Altersabhängige Auswirkung von Naloxon auf den LH-Serumspiegel juveniler Ratten im Vergleich zur mittleren LH-Serumkonzentration entsprechender Kontrolltiere* :

-- Die Ergebnisse von IEIRI et al. (1979) stehen jeweils in Klammern neben den Angaben von BLANK et al. (1979) --

	♀ Ratten					♂ Ratten				
Lebensalter in Tagen	10	15	20	25**	30	10	15	20	25**	30
Kontrolltiere, Serum-LH (ng/ml)	45 (70)	26 (92)	16 (40)	23 (42)	25 (44)	25 (10)	21 (37)	28 (22)	10 (38)	10 (26)
Verhalten des LH-Serumspiegels nach Naloxonapplikation	+ (+)	+ (+)	0 (+)	+ (+)	0 (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	0 (+)

* Die teilweise — besonders bei ♀ Ratten — deutlich abweichenden LH-Kontrollwerte beider Arbeitsgruppen dürften auf die unterschiedliche Blutentnahmezeit (12^{30} - 13^{30} bzw. 16^{30} - 17^{30}) zurückzuführen sein.

** BLANK et al. (1979) untersuchten die Tiere im Alter von 24 und 26 Tagen — da sich für diese Tage jeweils gut übereinstimmende Werte ergeben, sind sie in der Tabelle unter dem 25. Lebenstag aufgeführt.

\+ = sign. Anstieg ($p < 0{,}05$)

0 = Tendenz ansteigend, aber ohne statistische Signifikanz

\- = keine Abweichung von der Kontrolle

Aus den Versuchen von BLANK et al. (1979) und IEIRI et al. (1979) läßt sich ableiten, daß Naloxon bei weiblichen Ratten in gewissen Perioden vor der Pubertät in der Lage ist, ein deutliches Anwachsen des LH-Serumwertes zu verursachen, während sich bei männlichen Tieren der LH-Spiegel prepubertal in allen untersuchten Altersstufen als naloxonresistent erweist (Ausnahme: die 30 Tage alten Männchen bei IEIRI reagieren bereits auf Naloxon) und erst bei Einsetzen der sexuellen Reife mit signifikantem LH-Anstieg auf Naloxon antwortet.

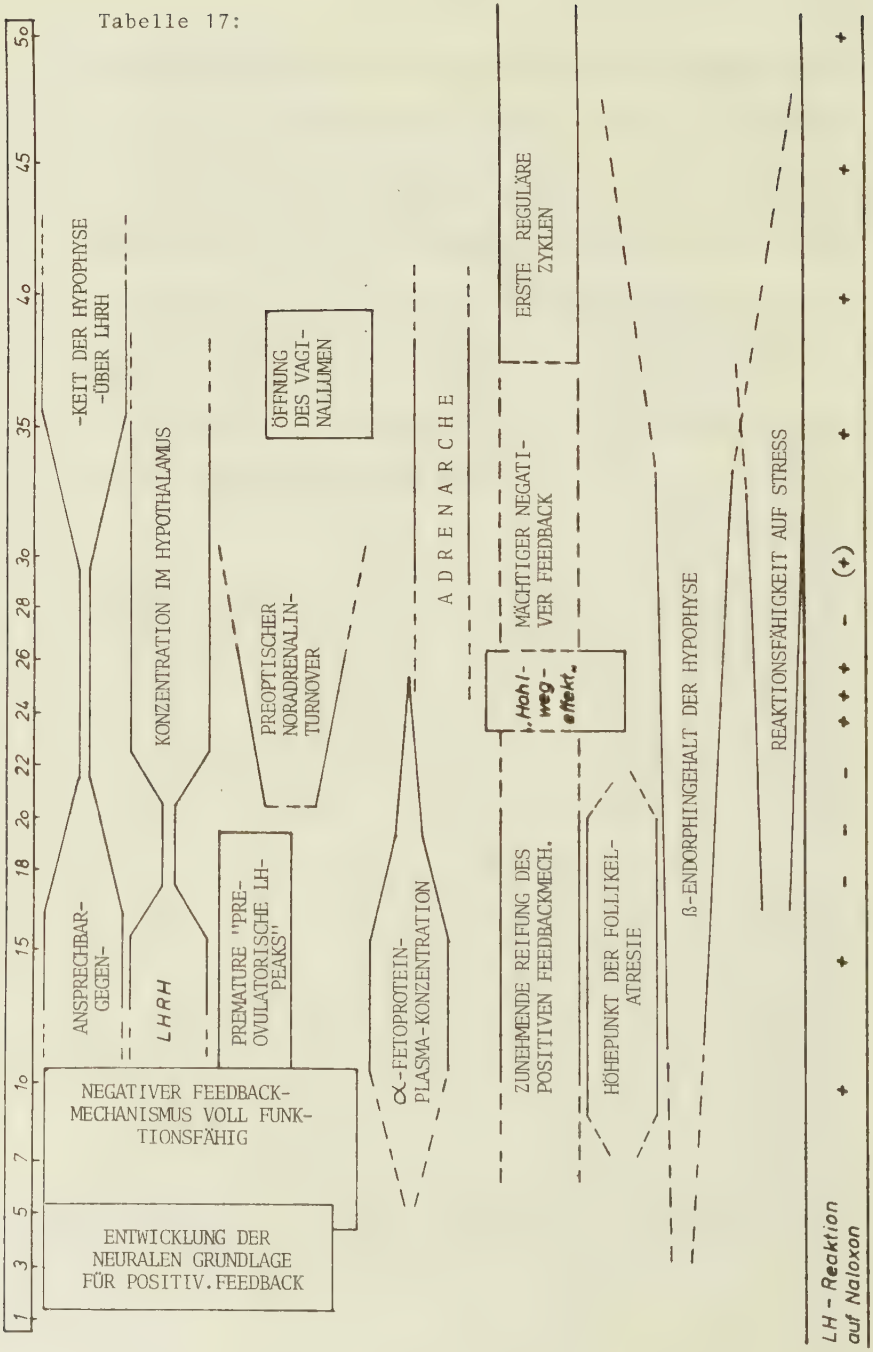
Angesichts der — aufgrund unterschiedlicher Organisation der Feedbackmechanismen — völlig verschiedenen Basis, auf der der Vorgang der sexuellen Reifung bei männlichen und weiblichen Tieren fußt und der hohen Wahrscheinlichkeit einer steroidabhängigen Opioidbeteiligung an diesen Ereignissen, nimmt es nicht wunder, daß die prepubertale Antwort auf Naloxon bei beiden Geschlechtern sehr stark variiert.

Nun muß man einerseits voraussetzen, daß der Opiatantagonist grundsätzlich nur in solchen Perioden fähig ist, eine registrierbare Reaktion seitens der Gonadotropine auszulösen, in denen endogene Liganden eine Hemmwirkung auf die LH- und FSH-Freisetzung ausüben. Andrerseits wird er bei sehr starker Besetzung der Bindungsstellen von endogener Seite in der gewählten Dosierung (2,5 mg/kg bei BLANK bzw. 2 mg/kg bei IEIRI) nicht in der Lage sein, die agierenden Opioide wirksam zu verdrängen. Entsprechend

wird Morphin nur dann einen LH-Effekt zeigen, wenn es auf Rezeptoren trifft, die nicht schon mit hohen Konzentrationen endogener Liganden konfrontiert sind. Vermutlich erfordern also beide Drogen, um eine Wirkung zu demonstrieren, zum einen die Anwesenheit bereits funktionsfähiger Rezeptorpopulationen — was im Fall des positiven Feedback bei weiblichen Tieren erst ab einer bestimmten Zeitspanne der Fall sein dürfte —, zum anderen — vornehmlich im Rahmen des negativen Feedback — einen gewissen "Spielraum" in der Besetzung der Bindungsstellen durch endogene Opiate.

Um eine ungefähre, zeitliche Zuordnung der bei weiblichen Ratten prepubertal wechselnden LH-Reaktion auf Naloxon bzw. Morphin zu einigen gleichzeitig ablaufenden, neuroendokrinen und morphologisch-funktionellen Ereignissen zu erhalten, wurde der Versuch gemacht, diese anhand einer Tabelle (17) schematisch darzustellen. Darüberhinaus zeigt Abb. 34 die Änderungen in Östradiol-, FSH-, LH- und Prolactin-Serumkonzentrationen von der Geburt bis zum Auftreten des ersten regulären Zyklus.
Bei vergleichender Betrachtung der jeweils parallel stattfindenden Vorgänge, läßt sich eine Interpretation der Resultate von BLANK et al. (1979) und IEIRI et al. (1979) versuchen.
So spiegeln sich in der im Alter von 10 und 15 Tagen deutlichen LH-Antwort auf Naloxon die derzeit relativ schwache

Tabelle 17:


1
3
5
7
10
15
18
20
22
24
26
28
30
35
40
45
50
NEGATIVER FEEDBACK-MECHANISMUS VOLL FUNKTIONSFÄHIG
ENTWICKLUNG DER NEURALEN GRUNDLAGE FÜR POSITIV. FEEDBACK
ANSPRECHBARKEIT DER HYPOPHYSE ÜBER LHRH
GEGENKONZENTRATION IM HYPOTHALAMUS
LHRH
PRÄMATURE "PRÄOVULATORISCHE LH-PEAKS"
PREOPTISCHER NORADRENALIN-TURNOVER
ÖFFNUNG DES VAGINALLUMEN
α-FETOPROTEIN-PLASMA-KONZENTRATION
ADRENARCHE
ZUNEHMENDE REIFUNG DES POSITIVEN FEEDBACKMECH.
„Hohlweg-effekt"
MÄCHTIGER NEGATIVER FEEDBACK
ERSTE REGULÄRE ZYKLEN
HÖHEPUNKT DER FOLLIKEL-ATRESIE
ß-ENDORPHINGEHALT DER HYPOPHYSE
REAKTIONSFÄHIGKEIT AUF STRESS
LH - Reaktion auf Naloxon
+
+
-
-
-
+
+
+
-
(+)
+
+
+

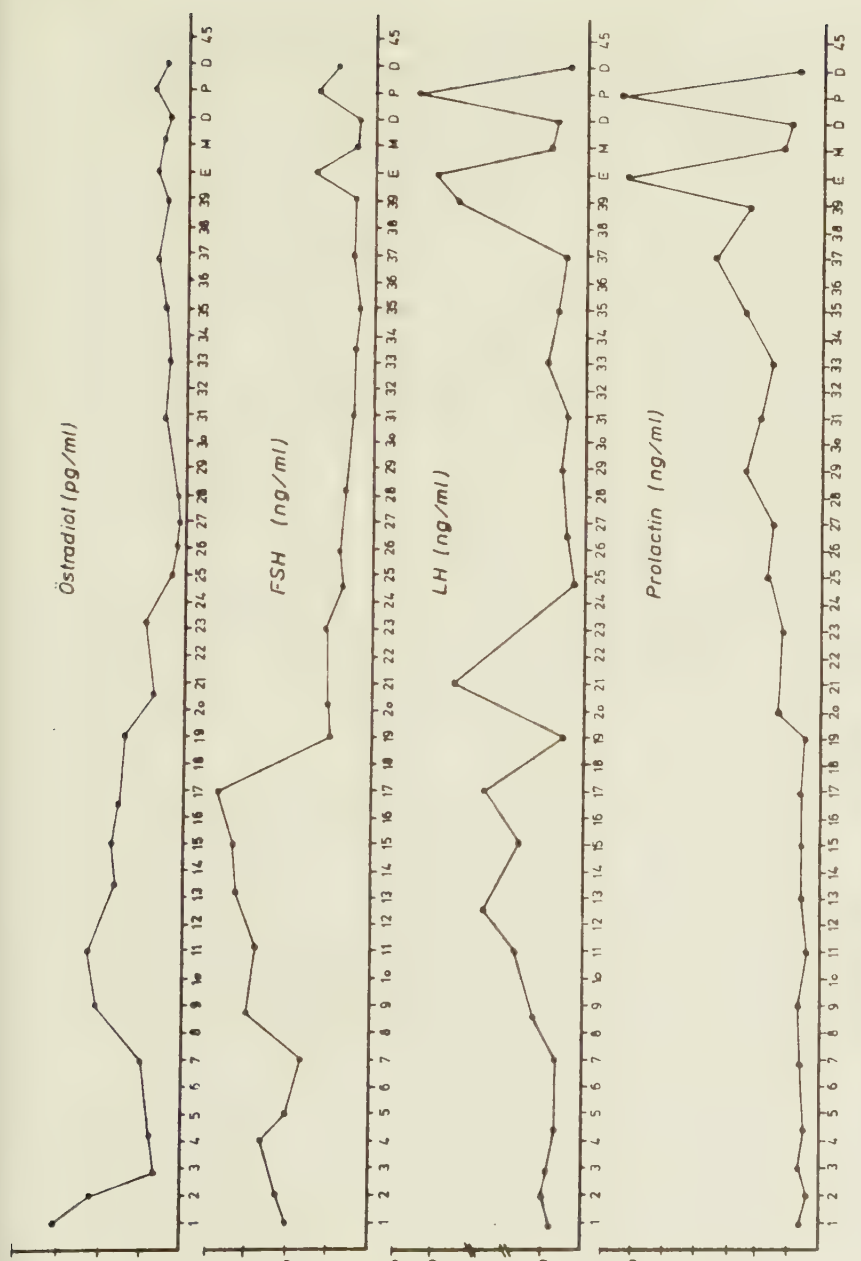


Abb. 34: Serum-Hormonkonzentrationen weiblicher Ratten von der Geburt bis zur Pubertät, bei jeweils zwischen 16.00 und 17.00 Uhr erfolgender Blutgewinnung (nach Angaben von WUTTKE et al., 1980)

Ausprägung des negativen, bei zunehmender Reifung des positiven Steroid-Feedback und die mit hohem hypothalamischem LHRH-Gehalt einhergehende, hypophysäre LHRH-Empfindlichkeit. Die folgende LH-Reaktionspause (18., 20., 22. Tag) gegenüber dem Opiatantagonisten trifft mit zwischenzeitlichem Absinken der LHRH-Konzentration, erheblicher LHRH-Sensibilitätsabstumpfung seitens der Hypophyse, geringfügig ansteigendem, freiem Plasma-Östrogen und demnach nur langsam anfangender Adaptation des negativen Rückkopplungsmechanismus zusammen. Um den 24., 25. und 26. Tag, der Zeit also, wo auch der Hohlwegeffekt provoziert werden kann, erreicht LHRH im Hypothalamus erneut einen Peak, die LH-Speicher der Gonadotropen beginnen, sich trotz kaum vorhandener Hypophysenansprechbarkeit auf LHRH zu füllen, der negative Feedback der Gonadensteroide wird —ungeachtet der niedrigen Blutkonzentrationen— schärfer angezogen: Naloxon löst wieder LH-Peaks aus. Da zwischen dem 28. und 35. Tag ein merklicher Anstieg jetzt vorwiegend freien Plasma-Östrogens registrierbar ist, dem die zunehmend stärkere Ausprägung des negativen Feedback vor Pubertätsbeginn — die offensichtlich zu vermehrter Opiatrezeptorbesetzung durch endogene Liganden Anlaß gibt — zur Last gelegt wird, scheint das Ausbleiben einer Naloxonwirkung in der gewählten Dosierung zu dieser Zeit einleuchtend. Demnach könnte BLANK durch die Östrogenapplikation am 23. bzw. am 22. und 23. Tag diese Situation künstlich vorverlegt haben, so daß der Naloxoneffekt am

24. Tag nicht mehr auftaucht. Mit dem Einsetzen der Pubertät, also der auf einer Kette von Faktoren gründenden Lockerung des strengen negativen Rückkopplungsmechanismus, beweist Naloxon dann wieder die Fähigkeit, eine LH-Erhöhung zu induzieren.
Somit dürften bei der weiblichen Ratte die variierenden LH-Antworten auf Naloxon während der prepubertalen Zeit zumindest teilweise das Substrat eines in wechselnder Anspannung befindlichen, negativen, bzw. eines sich stufenweise entwickelnden, positiven Steroid-Rückkopplungsmechanismus, verbunden mit Änderungen im Grad der Rezeptorbesetzung durch endogene Opiate, verkörpern. Ähnlich mag beim männlichen Tier die — über Induktion von Opioiden ablaufende — Androgen-Feedbackwirkung für die erst mit Einsetzen der Pubertät ausgeprägte LH-Reaktion auf Naloxon verantwortlich zeichnen.

Insgesamt kann aus den Resultaten von BLANK et al. (1979) und IEIRI et al. (1979) der Schluß gezogen werden, daß endogene Opiate in den Wandel des Gonadotropinmusters während der Entwicklungsperioden bei beiden Geschlechtern steuernd eingreifen, und demzufolge "ein wichtiges Glied in der Ereigniskette darstellen, die zur Pubertät führt".

8.3. OPIOIDE UND PREPUBERTALE PROLACTINFREISETZUNG

Parallel zur Prüfung der Naloxon- und Morphinwirkung auf den LH-Spiegel juveniler männlicher und weiblicher Ratten testeten IEIRI et al. (1979) bei identischen Experimentbedingungen (Vgl. Tabelle 15) den Effekt dieser Drogen auf den Prolactinspiegel prepubertaler Tiere. Dabei stellte sich heraus, daß die Ratten, mit Ausnahme der 25 Tage alten Männchen, in sämtlichen untersuchten Altersstufen (10, 15, 20, 25 und 30 Tage) auf Morphinapplikation (2 mg/kg s.c.) mit signifikantem Prolactinanstieg antworten, wobei sich die Maximalreaktion bei 15 Tage alten Tieren beiderlei Geschlechts abzeichnet. Naloxonverabfolgung (2 mg/kg s.c.) erzeugt 30 Minuten post iniectionem — bei weiblichen aller Altersgruppen ohne Wirkung — lediglich bei männlichen Ratten am 25. Lebenstag signifikanten Abfall der Serumprolactinkonzentration.

Es zeigt sich insofern Übereinstimmung mit den Resultaten von SHAAR et al. (1977), die für ihre Pilotversuchsserie juvenile, 29 Tage alte, weibliche Ratten herangezogen hatten, als auch hier Naloxon in einer Dosis über 0,4 mg/kg s.c. eines Effektes auf den Serumprolactinspiegel entbehrt. Demnach könnte die von IEIRI et al. (1979) vermerkte Wirkungslosigkeit des Opiatantagonisten auf die gewählte Dosis (2 mg/kg s.c.) zurückzuführen sein.

Allerdings lassen die Experimente von BLANK (BLANK et al., 1979) demgegenüber einige Zweifel aufkommen. Hier reagieren nämlich weibliche Ratten, die am 22. und 23. bzw. nur am 23. Lebenstag 1 µg Östradiolbenzoat erhalten und im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren erhöhte Prolactinbasalwerte aufweisen, auf Naloxonapplikation (2,5 mg/kg s.c.) mit signifikantem Prolactinabfall, wie er ebenso bei den Kontrollratten registrierbar ist.

Das Resultat scheint daneben den Schluß nahezulegen, daß Östrogenverabfolgung unter diesen Gegebenheiten keinen Einfluß auf die naloxoninduzierte Prolactinspiegeldepression ausübt. Dagegen mag einer An- oder weitgehenden Abwesenheit von Östrogen im reifen Organismus durchaus gewisse Bedeutung in dieser Hinsicht zuzumessen sein, wenn man sich die im Zusammenhang mit der Prüfung eines Naloxoneffektes auf die Ausprägung des REM-abhängigen Prolactinspiegelverlaufs beim Menschen gewonnenen Resultate (Vgl. Seite 147 ff) nochmals vergegenwärtigt: Postmenopausale Frauen demonstrieren auf Naloxoninfusion Prolactindepression, wohingegen Versuchspersonen im frühen Follikelstadium keine Prolactinantwort verzeichnen lassen.

8.4. PUBERTÄT, ACTH UND HYPOPHYSÄRES ß-ENDORPHIN

Interessant im Zusammenhang mit den Experimenten an prepubertalen Tieren ist die Entdeckung, daß bei Ratten der ß-Endorphingehalt der Hypophyse mit zunehmendem Alter merklich ansteigt, wobei ein sehr rascher Zuwachs von der 5. - 10. Lebenswoche zu verzeichnen ist, der Zeit also, wo die sexuelle Reife einsetzt (BAIZMANN et al., 1978). Allerdings ist die Bedeutung dieses Phänomens augenblicklich noch unklar, zumal endogenen Opiaten die Fähigkeit großteils abgesprochen wird, unmittelbar auf Hypophysenebene Einfluß auf die Gonadotropinsekretion auszuüben, wenngleich jüngste Ergebnisse ihnen Einwirkung auf Laktotrope zuerkennen (ENJALBERT et al., 1979a und b). Andrerseits könnte die Erhöhung hypophysären ß-Endorphins in erster Linie mit anderen Ereignissen in Zusammenhang stehen, die beim Übergang vom juvenilen zum adulten Lebensabschnitt von Bedeutung sind. Möglicherweise ist sie Ausdruck einer verstärkten Reaktionsfähigkeit auf Schmerz und Stress. Dafür spräche die Beobachtung, daß sich bei 15 Tage alten Ratten noch keine stressinduzierte Antwort seitens des Prolactin-, TSH- oder Corticosteron-Blutspiegels andeutet (FENSKE et al., 1977; WUTTKE et al., 1980), der Mechanismus, der die "Botschaft Stress" an die neuroendokrine Achse sendet — bzw. deren Beantwortung durch die entsprechenden Systeme — , also noch nicht voll entwickelt zu sein scheint. Dagegen stellt sich etwa

ab dem 20. Lebenstag zunehmende Funktionsfähigkeit ein. Zieht man außerdem in Betracht, daß vielfach der Adrenarche, einem Stadium gesteigerter Nebennierensteroidsekretion, das vor der Pubertät zu beobachten ist, wesentliche Funktion bei der Einleitung der sexuellen Reife — im Sinne einer Desensibilisierung des Hypothalamus gegenüber dem strengen, negativen Steroid-Feedbackmechanismus — zuerkannt wird, so könnte hierbei hypophysärem ß-Endorphin eine Rolle zufallen. Zu diesen Spekulationen regt einmal die Tatsache an, daß ß-Endorphin und ACTH zumindest unter bestimmten Bedingungen gemeinsam von der Hypophyse freigesetzt werden (GUILLEMIN et al., 1977), zum anderen die Beobachtung, daß Stress wie auch Dexamethasonbehandlung signifikanten Abfall, Adrenalektomie hingegen deutliche Erhöhung der adenohypophysären ß-Endorphinkonzentration bewirkt (ROSSIER et al., 1977b; 1979a).

Einerseits die Feststellung, daß permanente Streßeinwirkung, wie sie etwa durch hohe Populationsdichte verursacht wird, während des sexuellen Reifungsprozesses zur Verminderung der Fortpflanzungsleistung führt, andrerseits die Beobachtung, daß eine Opioid-ACTH-Interaktion — möglicherweise auch auf Rezeptorebene — besonders in Stress-Situationen bedeutsam sein mag, veranlaßten YASUKAWA et al. (1978), in einer Versuchsserie an 48 weiblichen Mäusen Auswirkungen des Opiatantagonisten Naloxon auf die ACTH-induzierte Hemmung von Reproduktionsfunktionen

zu testen. Dazu applizierten sie 24 Versuchstieren vom 21. - 60. Lebenstag täglich subkutan 4 I.E. ACTH-Extrakt aus Schweinehypophysen, während eine gleich starke Kontrollgruppe mit dem Lösungsmittel (0,5 ml 10%ige Gelatinelösung) allein behandelt wurde. Am 40. Lebenstag wurden jeweils der Hälfte jeder Gruppe naloxonhaltige (tägliche Freigabe: 20 - 60 µg), den übrigen Mäusen leere Silastic-Kapseln subkutan implantiert. Im Alter von 60 Tagen wurden alle Tiere dekapitiert.

Während ACTH zu signifikanter Reduktion von Körperwachstum ($p < 0,001$), Uterus- ($p < 0,001$) und Ovargewicht ($p < 0,01$), Abfall der Serum LH-Konzentration, sowie deutlicher Verminderung des Anteils an Tieren mit Corpora lutea bzw. regelmäßigen, regulären Zyklen führt, gelingt es mit Naloxonbehandlung, diese ACTH-Effekte zu egalisieren.

Darüberhinaus scheint der Opiatantagonist, allein verabreicht, die Reproduktionsleistung noch zu steigern, da sich auf Naloxonapplikation hin, neben einer Anhebung des LH-Serumspiegels, deutliche — allerdings bei der verwendeten Tierzahl keine statistisch signifikante — Erhöhung von Uterus- und Ovargewicht, wie vermehrte Anzahl an Corpora lutea gegenüber unbehandelten Kontrolltieren zeigen. Diese Resultate lassen YASUKAWA et al. (1978) zu der Anschauung kommen, "that endogenous ACTH, possibly together with related peptides, such as ß-endorphin, may exert a partial tonic inhibitory effect on reproductive function...".

9. ENDOGENE OPIATE UND ALTERUNGSBEDINGTE VERÄNDERUNGEN IM BEREICH DER HYPOTHALAMUS-HYPOPHYSEN-TESTESACHSE

Eine gewisse "Fortsetzung" bzw. das Pendant der Untersuchungen, die den Naloxoneinfluß auf LH vor, während und unmittelbar nach Erlangen der sexuellen Reife verfolgt hatten, stellen die Experimente von STEGER et al. (1980) dar, die die Effekte des Opiatantagonisten auf Serum-LH- und -Testosteronspiegel bei alten und jungen, männlichen Ratten verglichen, und damit alterungsbedinte Änderungen im Bereich der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse auf eine ursächliche Beteiligung endogener Opiate hin überprüften. Dabei gingen sie von der Beobachtung aus, daß beide Hormone bei alten Tieren einen wesentlich niedrigeren Blutspiegel aufweisen, als bei jüngeren. Die Versuchsanordnung für die drei in diesem Zusammenhang durchgeführten Tests gibt Tabelle 18 wieder.

Im 1. Experiment zeigt sich, daß Naloxon zwar bei beiden Altersgruppen einen Testosteronspiegelanstieg verursacht, die jungen Ratten jedoch erheblich stärker reagieren (Abb. 35a). Wie aus dem 2. Experiment ersichtlich, pendeln sich die Testosteronkonzentrationen bei jungen, naloxonbehandelten Ratten bereits 4 Stunden post iniectionem auf die Ausgangswerte ein, wohingegen alte dafür die doppelte Zeit benötigen (Abb. 35b). Bei Betrachtung der im 1. und 2. Experiment zu jeweils vergleichbaren Zeiten

Tabelle 18: Versuchsbedingungen zur Ermittlung des Naloxoneinflusses auf Serum LH- und -Testosteronkonzentrationen bei alten (18-20 Monate) im Vergleich zu jungen (4-5 Monate), männlichen Ratten (nach STEGER et al., 1980)

	Ratten ♂ *	Injektion	Blutentnahme		Bestimmung
			Art	Zeitpunkt	
1. Experiment	6 junge, 6 alte	Naloxon (2 mg/kg) i.v.	per Atrialdauerkanüle (Implantation 3 Tage vor Experimentbeginn) – ohne Anästhesie – (Resuspension der Erythrozyten in steriler, physiol. NaCl-Lsg. u. Reinjektion vor jeder Probenahme)	unmittelbar vor (Zeit 0), sowie 30, 60 90, 120 Minuten post iniectionem	Serum-Testosteron (RIA)
	6 junge, 6 alte	0,9 % NaCL-Lösung i.v.			
2. Experim.	6 junge, 6 alte	Naloxon (2 mg/kg) i.p.	Orbitalsinuspunktion unter leichter Ätheranästhesie	1, 2, 4, 8 Std. post iniectionem	Serum-Testosteron (RIA)
	6 junge, 6 alte	0,9 % NaCl-Lösung i.p.			
3. Experiment	6 junge, 6 alte	Naloxon (2 mg/kg) i.p.	Dekapitation	30 Minuten post iniectionem	Serum-LH (RIA)
	7 junge, 6 alte	Morphin (10 mg/kg) i.p.			
	7 junge, 8 alte	0,9 % NaCl-Lösung i.p.			

* Haltungsbedingungen: Hell-Dunkelrhythmus von 14 : 10 Stunden (5.00 Licht an)
Temperatur 24 ± 2° C; Einzelkäfige

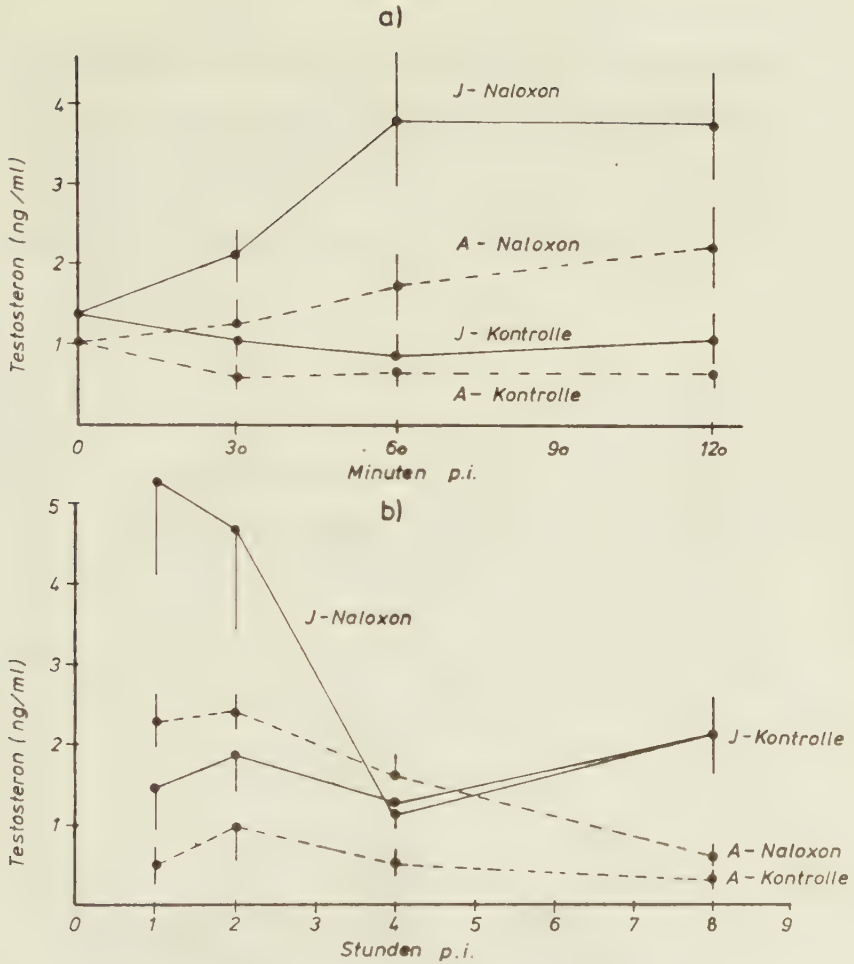


Abb. 35: (nach STEGER et al., 1980)

a: Auswirkung von Naloxon (2 mg/kg i.v.) auf den Plasma-Testosteronspiegel alter und junger, männlicher Ratten (Blutentnahme über Atrialdauerkanüle).

b: Auswirkung von Naloxon (2 mg/kg i.p.) auf den Plasma-Testosteronspiegel alter und junger, männlicher Ratten (Blutentnahme mittels Orbitalsinuspunktion unter Äther).

gewonnenen Werte, fallen leichte Abweichungen auf, die vermutlich der unterschiedlichen Blutentnahmeart bzw. dem damit verbundenen Stress zuzuschreiben sind (Atrialkanüle bzw. Orbitalsinuspunktion unter Äther) und bei jungen Tieren etwas deutlicher hervortreten. Das 3. Experiment

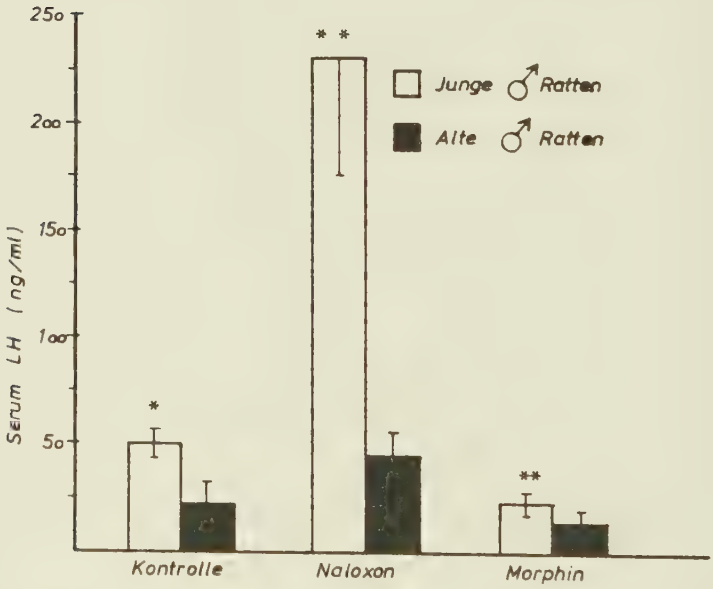


Abb. 36: Effekt von Morphin (10 mg/kg i.p.) und Naloxon (2 mg/kg i.p.), 30 Minuten post iniectionem, auf den Serum-LH-Spiegel junger und alter, männlicher Ratten.

* $p < 0{,}05$ verglichen mit alten Tieren;

** $p < 0{,}05$ verglichen mit entsprechenden Kontrolltieren (phys. NaCl-Lösung)

(nach Angaben von STEGER et al., 1980)

demonstriert, daß bei jungen Tieren,mit wesentlich höheren LH-Basalwerten im Vergleich zu alten, Naloxon 30 Minuten post iniectionem einen LH-Astieg provoziert, bei alten Ratten dagegen keinen signifikanten Effekt verbuchen läßt. Ähnlich zeigt Morphin nur bei jungen Tieren deutlichen LH-Abfall (Abb. 36).

Daß Morphin seinen Einfluß auf den Testosteronblutspiegel männlicher Ratten nicht über direkte Einwirkung auf die Testes entfaltet, hatte bereits CICERO (CICERO et al., 1977a und b) nachweisen können: Hypophysektomierte, HCG-substituierte, männliche Tiere demonstrieren auf Morphin-applikation keine Veränderung der Testosteronblutkonzentration. Nun sollte auch für Naloxon ein derartiger Beweis erbracht werden. Dazu verwendeten STEGER et al. (1980) junge (4-5 Monate), hypophysektomierte Ratten — allerdings ohne Gonadotropinsubstitution —, bei welchen sie unmittelbar vor, wie 30 und 90 Minuten nach Naloxoninjektion (2 mg/kg i.p.) die Serum-Testosteronspiegel bestimmten. Wie Morphin zeigt Naloxon hier keinen Effekt.
Eine direkte Einflußnahme des Opiatantagonisten auf die Testes dürfte also unwahrscheinlich sein, und auch die altersbedingten Veränderungen in der Ansprechbarkeit des Testosteronspiegels auf Naloxon mögen primär von anderer Ebene ausgehen.

In der Folge war es von Interesse, festzustellen, inwieweit sich Alterseinflüsse auf den hypothalamischen Methionin-Enkephalingehalt bemerkbar machen. Bestimmungen (RIA) an je 16 männlichen Ratten ergaben eine signifikante ($p < 0,05$) Erhöhung der Met-Enkephalinkonzentration im Hypothalamus alter (839 $\pm$ 163 ng/g) im Vergleich zu jungen (491 $\pm$ 46 ng/g) Tieren (STEGER et al., 1980).

Analog wie bei männlichen, wurde kürzlich auch bei weiblichen Ratten von altersabhängigen Schwankungen im Opioidgehalt von Hypothalamus (KUMAR et al., 1979b), wie anderen Hirnregionen berichtet (PATEY et al., 1980).
Die Versuchsergebnisse gestatten zunächst folgendes Résumée:

1. Alte wie junge, männliche Ratten reagieren auf Naloxon mit einem Ansteigen ihrer Serum-LH- und -Testosteronspiegel, wobei der Effekt bei jungen Tieren signifikant stärkere Ausprägung erfährt.
2. Testosteron antwortet vermutlich indirekt auf den Opiatantagonisten, d.h. auf primäre Stimulation der LH-Sekretion durch Naloxon, was sich zum einen in der verzögerten Manifestation des Konzentrationsanstiegs (60 Min. p.i.) gegenüber LH (30 Min. p.i.), zum anderen im Fehlen eines Naloxoneinflusses auf testikulärer Ebene artikuliert.
3. Entsprechend dürfte die verminderte Testosteronantwort auf Naloxon bei alten Tieren auf die geringere LH-Stimulation zurückzuführen sein.

4. Wiedereinpendeln der Bluttestosteronwerte auf die Ausgangsdaten beansprucht bei alten Ratten in etwa die doppelte Zeit wie bei jungen.
5. Der hypothalamische Met-Enkephalingehalt erweist sich bei alten Tieren als deutlich erhöht.

Wenn auch letztlich eine Vielzahl von Fragen nach Ursachen und Zusammenhängen der altersbedingten Veränderungen in der Hypothalamus-Hypophysen-Testes-Achse offen bleibt, so geben diese Resultate doch einige interessante Hinweise.

Geht man von dem im Alter zu beobachtenden Zuwachs an hypothalamischem Met-Enkephalin aus, so mag darin der Schlüssel zu einer Reihe anderer — parallel wie als Folge auftretender — Abweichungen erblickt werden. Nachdem endogenen Opiaten eine tonische Hemmung der Gonadotropinsekretion zugeschrieben wird, die mit hoher Wahrscheinlichkeit auf hypothalamischem Level ansetzt, d.h. unter direkter oder eher indirekter — andere Neurotransmitter einbeziehender — Einwirkung auf LHRH-Neurone stattfindet, könnte hierin zum einen die Grundlage für die im Alter niedrigen Serum-LH- und -Testosteronspiegel, zum anderen für die erheblich abgeschwächte Fähigkeit sowohl von Morphin, als auch von Naloxon, einen Effekt auf LH oder Testosteron zu demonstrieren, zu suchen sein: Naloxon trifft auf bereits übermäßig mit endogenen Liganden besetzte Rezeptoren und erweist sich in der gewählten Dosierung als ausserstande, erfolgreich um die Bindungsstellen zu konkur-

rieren. Für diese Interpretation spricht die Tatsache, daß höhere Naloxongaben von stärkerer Effektivität auf die LH-Sekretion sind, wobei sie allerdings die bei jungen Tieren zu erzielendèn Werte nicht erreichen (STEGER und MEITES unveröffentlicht). Ähnlich sieht die Situation für Morphin aus: Es vermag, angesichts der schon stattfindenden, maximalen Unterdrückung der LH-Freisetzung von endogener Seite, keinen zusätzlichen Effekt mehr in dieser Richtung zu behaupten.

Unterstützung für diese Auslegung findet man darüberhinaus in der Beobachtung, daß im Hypothalamus alter Ratten die Catecholaminaktivität reduziert, die von Serotonin dagegen deutlich gesteigert ist. Wenn nämlich — wie mehrfach vermutet — endogene Opiate ihren Einfluß auf die Gonadotropinausschüttung unter Angriff anderer Neurotransmitter entfalten, und zwar unter Behinderung der LHRH-stimulierenden Noradrenalin- und Dopaminwirkung einer-, wie unter Förderung der LHRH-hemmenden Serotoninaktion andrerseits, so läßt sich hier unschwer eine Korrelation zu den veränderten Konzentrationen dieser Substanzen finden. Umgekehrt ergibt sich daraus eine weitere Bestätigung für eine Opioid-Catecholamin- bzw. Opioid-Serotonin-Interaktion.

Weit schwieriger gestaltet sich der Versuch, eine Erklärung für die Ursache der erhöhten Enkephalinkonzentration im Hypothalamus zu finden. Angesichts der vielen Hinweise, die für eine essentielle Beteiligung endogener Opiate an

der Manifestation des negativen Steroid-Feedback sprechen, wäre vorrangig in dieser Richtung zu suchen. Daß relativ niedrige Testosteronspiegel keineswegs auf eine geringe Ausprägung des negativen Feedbackeinflusses schließen lassen, hatte sich bereits im Rahmen der Untersuchungen an prepubertalen Ratten gezeigt: die Effektivität des negativen Steroid-Feedback läßt mit Einsetzen der Pubertät trotz oder gerade wegen der ansteigenden Testosteronspiegel erheblich nach. Überhaupt können bei vergleichender Betrachtung von prepubertaler Zeit und Alter erstaunliche Parallelen gezogen werden: zeigt der LH-Spiegel prepubertaler, männlicher Tiere noch keine Reaktion auf Naloxon, so bleibt diese im Alter ebenfalls weitgehend aus. In beiden Fällen beobachtet man zudem niedrige Testosteron-Serumwerte bei offenbar streng wirksamem, negativem Feedback, einen Fehlschlag von Morphin, eine weitere Reduktion des Gonadotropinspiegels im Blut herbeizuführen, sowie verminderte Hypophysenansprechbarkeit gegenüber LHRH, auf deren Konto teilweise die abgeschwächte LH-Reaktion nach Naloxon gehen dürfte (BLANK et al., 1979; IEIRI et al., 1979; STEGER et al., 1980).

So gesehen könnte der erhöhte Enkephalingehalt im Hypothalamus alter Ratten das Substrat eines zunehmend mächtigeren Feedback seitens der Gonadensteroide darstellen. Inwieweit diese Zusammenhänge bei prepubertalen Tieren gegeben sind, bleibt künftigen Untersuchungen überlassen.

Dennoch läßt sich die Vermutung äußern, daß auch in diesem Fall eine relativ hohe Opioidkonzentration im Hypothalamus anzutreffen sein müßte.

Ob der bei alten Tieren zu vermerkenden, verzögerten Testosteron-Clearance — die sich, verglichen mit jungen Ratten, in der erheblich verlängerten Zeitspanne äußert, die vergeht, bis sich die Hormonspiegel nach Naloxon wieder auf die Ausgangswerte zubewegen — in diesem Rahmen eine Bedeutung zukommt, kann augenblicklich nicht sicher gesagt werden. Denkbar wäre aber, daß ein gewisser Aktivitätsverlust der entsprechenden, inaktivierenden Enzymsysteme im Alter — bzw. ein noch nicht voll entwickeltes, degradierendes Prinzip in der prepubertalen Zeit — eine längere Verweildauer der Steroide an ihren Bindungsstellen bewirkt, und damit — Hand in Hand mit den niedrigen Testosteronspiegeln — eine Voraussetzung für die schärfere Ausprägung des Feedback erfüllt wird. In diese Richtung würde auch die Hypothese weisen, es bestünden zwei verschiedene Populationen von Steroidrezeptoren für die Entfaltung des negativen Feedback, solche die auf kurze, aber intensive Stimulation, d.h. Einwirkung hoher Spiegel ansprächen, und solche, die langdauernde Anwesenheit geringer Konzentrationen erforderten (SHARP et al., 1978; GRIFFITHS et al., 1979).

In diesem Rahmen sei auf jüngste Berichte hingewiesen, wonach aus Hypophysen wie Plasma erwachsener, männlicher Ratten verschiedener Altersstufen extrahiertes LH bei

alten Tieren vergleichsweise höheres Molekulargewicht demonstriert, das einem vermehrten Gehalt an Sialsäure zugeschrieben wird. Da diese Beobachtung außerdem bei männlichen Ratten post castrationem zu vermerken ist, liegt die Vermutung nahe, daß dahinter der weitgehende Testosteronentzug steht, die Steroidaktion also nicht nur für Quantität, sondern daneben auch für Qualität hypophysärer LH-Antwort auf LHRH bedeutsam sein mag (EDWARDS, 1980).

10. BETEILIGUNG ENDOGENER OPIATE AM ZYKLUSGESCHEHEN

10.1. BASALE UND ZYKLISCHE GONADOTROPINSEKRETION

10.1.1. Östruszyklus der Ratte

Auch die Suche nach einer möglichen Beteiligung endogener Opiate an den während des Zyklus weiblicher Tiere auftretenden, hormonellen und funktionellen Änderungen nahm schließlich Gestalt an.

Schon als BARRACLOUGH et al. (1955) festgestellt hatten, daß Morphinapplikation (50 mg/kg) kurz vor der "kritischen Periode" am Nachmittag des Proöstrus bei Ratten die Ovulation verhindern kann, begann man, nach der Ursache dieses Phänomens zu forschen. Mehrere Autoren berichten von morphininduzierter Unterdrückung des preovulatorischen LH-Peak und führen die antiovulatorische Opiatwirkkung auf diesen Effekt zurück (ZIMMERMANN et al., 1976; MURAKI et al., 1977a und b; PANG et al., 1977). Weiterhin soll das Auftreten des preovulatorischen FSH-Anstiegs durch Morphin beeinträchtigt werden (MURAKI et al., 1977a und b).

Nachdem Verabreichung des Opiatantagonisten Naloxon, wie auch elektrische Stimulation der Eminentia mediana die Morphineffekte aufzuheben vermögen (PACKMAN et al., 1976; ZIMMERMANN et al., 1976; PANG et al., 1977; MURAKI et al., 1977b), lag die Vermutung nahe, daß die Morphinaktionen im Bereich der Hypothalamus-Hypophysen-Achse über eine Beeinflussung der LHRH-Freisetzung ablaufen und durch spe-

Tabelle 19: Versuchsanordnung zur Prüfung des Morphin- und/oder Naloxoneinflusses auf die Ausprägung des preovulatorischen LH- und FSH-Peak weiblicher Ratten in Abhängigkeit vom Applikationszeitpunkt am Proöstrustag (nach MURAKI et al., 1979)

Ratten ♀ * (ca. 12 Wochen alt)	Injektionszeitpunkt		Zeitpunkt der Blutgewinnung (Dekapitation) zur LH- und FSH-Analyse (RIA)
	Morphinhydrochlorid (50 mg/kg s.c.)	Naloxonhydrochlorid (2,5 mg/kg s.c.)	
je 6 - 8 (Kontrolle)			14.00
			16.00
			18.00
			20.00
je 6 - 8	12.00		18.00
	14.00		18.00
	16.00		18.00
		14.00	18.00
	14.00	14.00	18.00
	14.00	16.00	18.00
	14.00		20.00
	14.00	17.00	20.00

* Haltung der Tiere unter Hell-Dunkel-Rhythmus von 12 : 12 Stunden (Licht an um 6.00 Uhr)

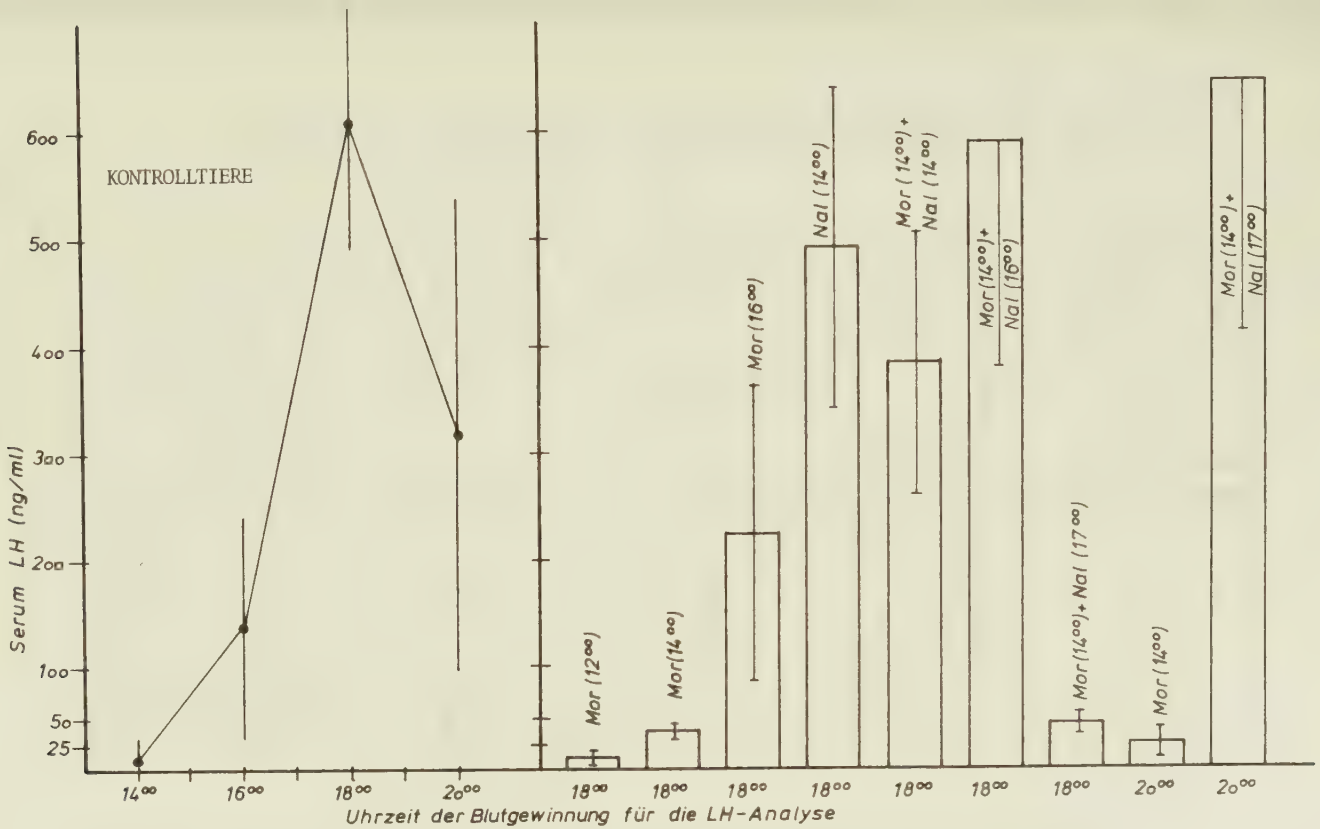


Abb. 37: Einflußnahme auf den preovulatorischen LH-Peak weiblicher Ratten durch Morphininjektion (MOR; 50 mg/kg) zu jeweils verschiedenen Zeiten am Proöstrustag, durch Naloxoninjektion (NAL; 2,5 mg/kg), sowie durch simultane oder in 2- bis 3-stündigen Abständen erfolgende Verabreichung beider Drogen im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren.
(Injektionszeit in Klammern hinter MOR bzw. NAL; n = 6 - 8 für jede Bestimmung)
(nach Angaben von MURAKI et al., 1979)

zifische Opiatrezeptoren vermittelt werden.
Stärkeres Gewicht erhielten diese Beobachtungen jedoch erst, als sich im Rahmen der Grundlagenforschung auf dem Gebiet der endogenen Opiate die Wahrscheinlichkeit einer physiologischen Beteiligung dieser Substanzen an der Gonadotropinregulation immer deutlicher herauskristallisierte.
Da die — vornehmlich an männlichen Ratten registrierte — LH-Spiegel senkende Wirkung die zunächst herausstechendste Erkenntnis in diesem Zusammenhang darstellte, wurde bei weiblichen Tieren dort mit systematischen Versuchen angesetzt, wo während des Zyklus die auffälligsten LH-Veränderungen im Serum auftreten: im Proöstrus.

In einer Reihe von Experimenten an weiblichen Ratten prüften MURAKI et al. (1979) einmal die Auswirkung von Morphin auf den preovulatorischen LH- und FSH-Peak in Abhängigkeit von der Applikationszeit am Proöstrustag, zum anderen den Effekt von Naloxon allein, sowie von Morphin und Naloxon nach simultaner bzw. zeitlich verschobener Verabreichung. Sie wählten 12 Wochen alte Tiere aus, die — bei täglich (zwischen 9.00 und 10.00 Uhr) erfolgter Untersuchung eines Vaginalabstriches zur Bestimmung des Zyklusstadiums — mindestens zwei regelmäßige, viertägige Zyklen gezeigt hatten (Versuchsanordnung: Tabelle 19).
Die Resultate (Abb. 37 und 38) lassen sich wie folgt zusammenfassen:

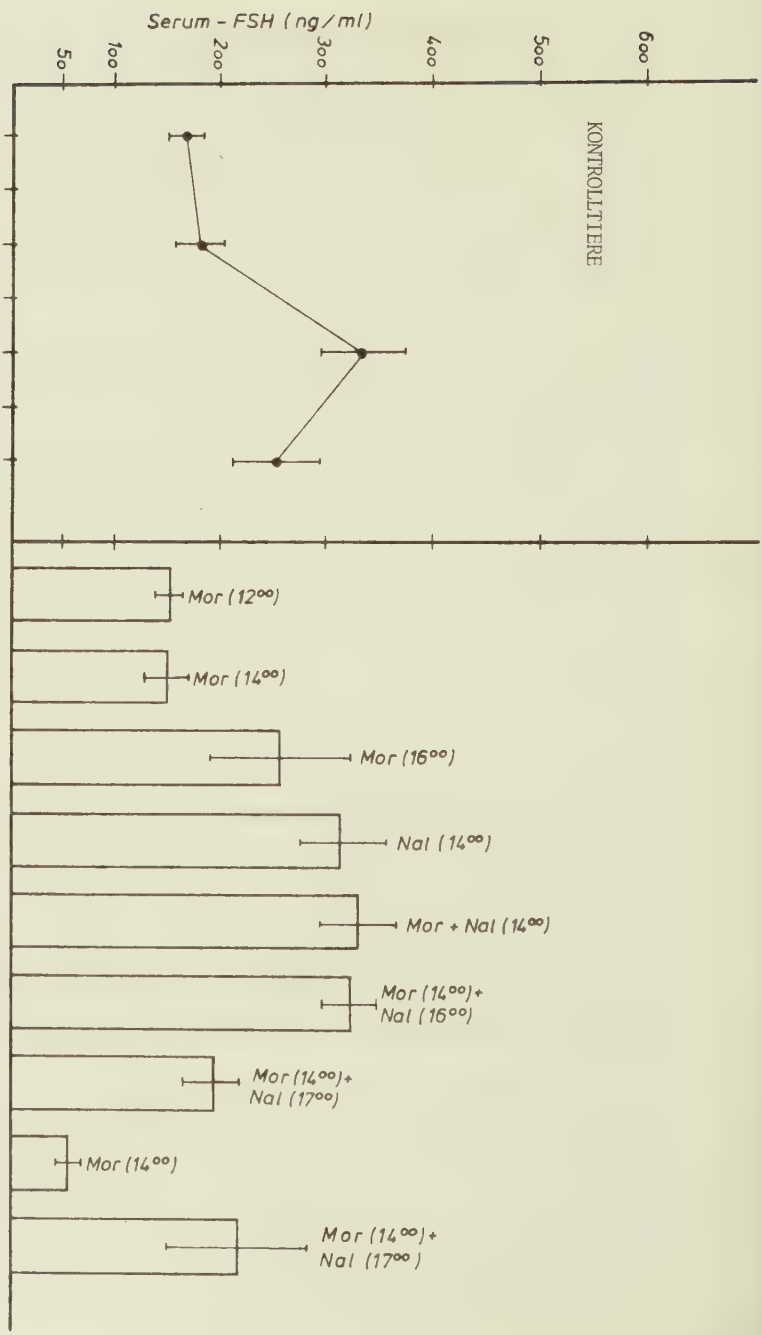


Abb. 38: Einflußnahme auf den preovulatorischen FSH-Surge weiblicher Ratten durch Morphininjektion (MOR 50 mg/kg) zu jeweils verschiedenen Zeiten am Proöstrustag, durch Naloxoninjektion (NAL; 2,5 mg/kg), sowie durch simultane oder in 2- bis 3-stündigen Abständen erfolgende Verabreichung beider Drogen im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren. (Injektionszeit in Klammern hinter MOR bzw. NAL; n = 6 - 8 für jede Bestimmung) (nach Angaben von MURAKI et al., 1979)

1. Morphin (50 mg/kg) ist sowohl nach Applikation um 12.00 wie um 14.00 Uhr am Proöstrustag in der Lage, den 18.00 Uhr-Gonadotropin-Surge zu blockieren. Um 16.00 Uhr injiziert, vermag es den LH-Peak nur noch unvollständig zu hemmen, FSH bleibt unberührt.
2. Naloxon (2,5 mg/kg) bringt allein — um 14.00 Uhr verabfolgt — keinen Effekt.
3. Bei simultaner Gabe von Morphin und Naloxon um 14.00 Uhr ist der Opiatantagonist fähig, den morphininduzierten Gonadotropinblock zu verhindern, was ihm ebenso gut bei Injektion zwei Stunden nach Morphin gelingt. Dagegen bleibt der 18.00 Uhr-Surge aus, wenn Naloxon erst um 17.00 Uhr verabreicht wird. Es zeigt sich aber, daß Morphin in diesem Fall lediglich eine Hinauszögerung des Gonadotropinanstiegs bewirkt, Naloxon also selbst hier dafür sorgt, daß — wenn auch mit zweistündiger Verspätung — doch noch ein Peak erscheint.

Die hier beschriebenen Ergebnisse stimmen gut mit den Beobachtungen von PACKMAN et al. (1976) überein, die in einer ähnlich angelegten Versuchsreihe an proöstrischen Ratten als Parameter für Morphin- bzw. Naloxoneffekte das Auftreten von Ovulationen herangezogen hatten, ohne den Gonadotropinblutspiegel zu messen.

Demnach entfaltet Morphin seine antiovulatorische Wirkung über Blockierung des Gonadotropin-Peak und damit der positiven Östrogen-Feedbackaktion. Allerdings zeigen sich diese Effekte bei 16.00 Uhr-Applikation von Morphin deutlich abgeschwächt, was den Schluß zuläßt, daß bei einmal begonnener, erhöhter Gonadotropinfreisetzung die Fähigkeit von

Morphin, diese zu hemmen, merklich abnimmt. Naloxon, simultan mit oder nach Morphin verabreicht, egalisiert die Opiataktion, läßt jedoch in diesen Experimenten allein keine Wirkung registrieren.

Im Gegensatz dazu konnten MARTON et al. (1981) an weiblichen Ratten, die am Proöstrustag entweder um 13.00 und 13.30 Uhr oder um 13.30 und 14.30 Uhr je 5 mg des Opiatantagonisten intraperitoneal erhielten, nicht nur signifikante Anhebung des LH-Peak und andeutungsweise Erhöhung der FSH-Ausschüttung, sondern daneben naloxoninduzierte Steigerung der Zahl ovulierter Follikel ($p < 0,01$) gegenüber Kontrolltieren verzeichnen. Den um 16.00, 18.00 und 20.00 Uhr ermittelten LH-Serumdaten zufolge, läßt Naloxon —offenbar den Gipfel des LH-Peak vorverlegend— den LH-Maximalwert bereits um 16.00 Uhr erscheinen und außerdem um 18.00 Uhr einen noch immer höheren LH-Spiegel, verglichen mit Kontrollratten, nachweisen.
Zu prüfen, ob die Ursache der abweichenden Ergebnisse in der gewählten Naloxondosis zu suchen ist, bleibt weiteren Experimenten vorbehalten, doch mag es prinzipiell einleuchten, daß bei starker Rezeptorbesetzung durch endogene Liganden entsprechend höhere Dosen des Opiatantagonisten für eine erfolgreiche Konkurrenz um die Bindungsstellen erforderlich sind. Inwieweit am Proöstrusnachmittag eine derartige Situation gegeben ist, sei augenblicklich dahingestellt.

Die von BLANK (BLANK et al., 1979) vermerkte Unfähigkeit des Opiatantagonisten, bei adulten, weiblichen Ratten eine LH-Reaktion im Zyklus auszulösen (Vgl. Seite 221 ff), zeigt wohl für den Proöstrustag gewisse Übereinstimmung mit den Ergebnissen von MURAKI et al. (1979), mag jedoch zumindest für die übrigen Tage nicht unbedingt die ganze Situation widerspiegeln. Beispielsweise führte BLANK an jedem der vier Zyklustage, jeweils 15 Minuten nach Naloxongabe (2,5 mg/kg s.c.) nur eine LH-Analyse durch, vermutlich aufbauend auf die Angaben bei männlichen Ratten, wonach die maximale LH-Antwort etwa 15-20 Minuten post iniectionem zu erwarten ist. Ferner stellt sich die Frage, ob eine einzige Naloxoninjektion bereits Einfluß auf die Serum-Gonadotropinkonzentrationen während des Zyklus nehmen kann, bzw. in welchen Zyklusstadien, ab wann post iniectionem und bei welcher Dosierung mit einer entsprechenden Reaktion zu rechnen wäre.

Nachdem Naloxon bei seinen Experimenten mit adulten, weiblichen Ratten über die Dauer des Östruszyklus keinen Effekt auf den LH-Spiegel verzeichnen läßt, testete BLANK (BLANK et al., 1979) außerdem, ob Veränderungen an der Ausprägung des Vaginalabstriches ablesbar werden, wenn Naloxon zweimal täglich (je 2,5 mg/kg) über alle vier Zyklustage verabfolgt wird. Es gelang ihm jedoch nicht, irgendwelche Abweichungen von dem für die jeweilige Zyklusphase typischen Muster festzustellen. Leider finden

sich in dieser Arbeit keine Hinweise auf den Applikationszeitpunkt von Naloxon, so daß eine Interpretation der Ergebnisse schwer möglich ist.

10.1.2. Menstruationszyklus

Interessante Hinweise auf eine Beteiligung endogener Opiate an der Regulation der Gonadotropinsekretion im Verlauf des Menstruationszyklus (Abb. 39) bekamen QUIGLEY et al. (1980), die die Naloxonwirkung auf den LH- und FSH-Spiegel in verschiedenen Zyklusstadien der Frau untersuchten. Insgesamt unterzogen sich 14 Personen, alle mit ungestörtem Zyklus, entweder im frühen (2.-4. Tag), im späten (11.-13. Tag) Follikel- oder im mittleren Lutealstadium (18.-21. Tag) — zwei davon während aller drei Zyklusphasen — dem Test. Sie erhielten eine sich über jeweils vier Stunden (ca. 11.00 - 15.00 Uhr) erstreckende Naloxoninfusion (1,6 mg/Std. bei konstanter Tropfrate). Die Blutentnahme (6 ml/Probe) erfolgte per Venenkatheter in 15 Minuten-Intervallen von drei Stunden vor (Ermittlung der Basalwerte) bis zwei Stunden nach der Naloxonapplikation. Mittels Radioimmunoassay wurden die Serumkonzentrationen von LH, FSH, Östradiol und Progesteron gemessen (bei den Steroiden nur zur Basalwertbestimmung).
Während in der frühen Follikelphase kein Naloxoneffekt zu bemerken ist, zeigt sich sowohl im späten Follikel-, als auch im mittleren Lutealstadium ein signifikanter, im

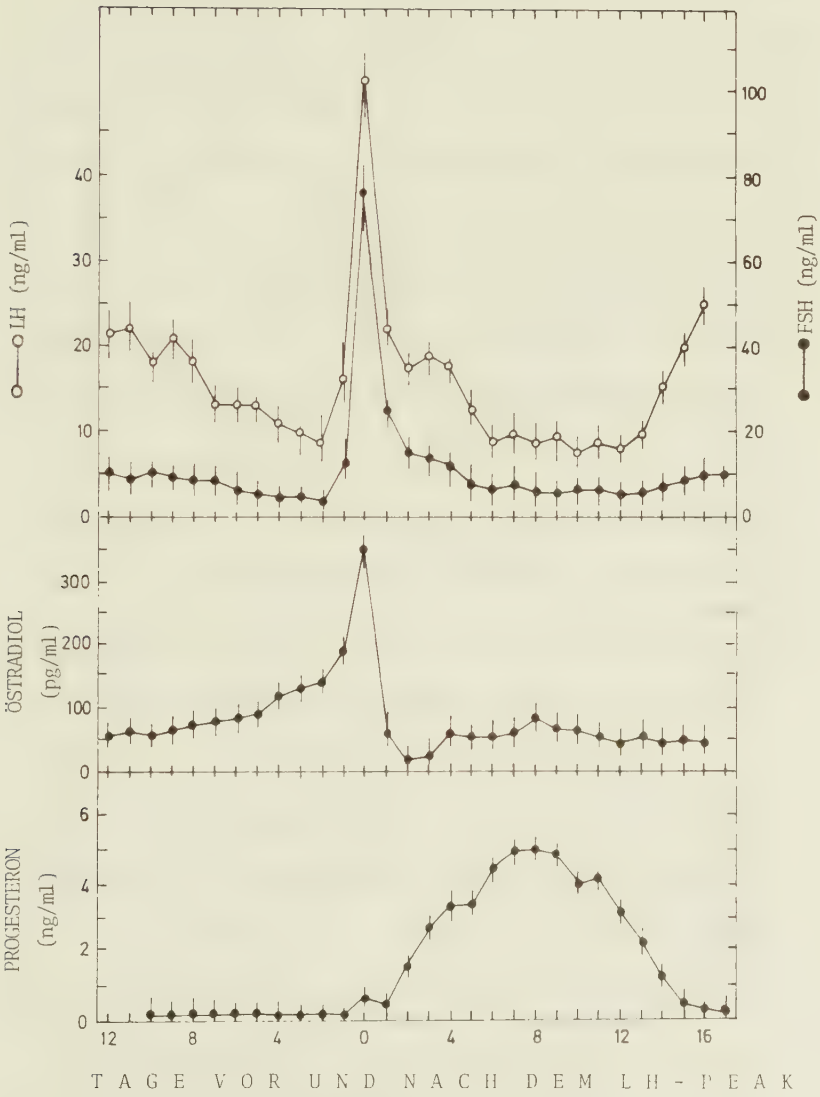


Abb. 39: LH-, FSH-, Östradiol- und Progesteron-Plasmakonzentrationen im Menstruationszyklus des Rhesusaffen (Tag 0 = Tag des LH-Peak)
(nach KREY et al., 1973)

Muster allerdings völlig verschiedener LH-Surge (Abb. 40). Der naloxoninduzierte LH-Anstieg im späten Follikelstadium läuft langsam an, erreicht ca. zwei Stunden nach Infusionsbeginn signifikante Höhe und schreitet progressiv einem Maximum (70,7 ± 16,9 % über dem mittleren Basalwert) gegen Ende der Infusion entgegen. Nach Absetzen von Naloxon bleibt der LH-Gehalt im Serum noch mindestens zwei Stunden erhöht (Abb. 40). Dagegen zeichnet sich der LH-Zuwachs in der mittleren Lutealphase viel früher ab (signifikant schon nach 45 Min.). Bereits nach 60 Minuten beschreibt der LH-Spiegel einen ersten Peak (125 ± 32 % über den mittleren Basalwert), läßt knappe zwei Stunden später einen zweiten folgen, um anschließend wieder abzufallen (Abb. 40).

Die Untersucher ziehen aus den Ergebnissen folgendes Resumee:

1. Der LH-Zuwachs während der Naloxoninfusion beläuft sich, quantitativ gesehen, in der mittleren Lutealphase auf mehr als den doppelten Wert, den er im späten Follikelstadium erreicht (Integral über dem Basalwert).
2. Naloxon scheint während der Lutealphase die Frequenz der LH-Pulse — verglichen mit dem normal zu beobachtenden Auftreten von 1 Puls/ 3 - 4 Stunden — zu erhöhen.
3. Bei den in der späten Follikelphase untersuchten Frauen ergibt sich eine signifikante, lineare Korrelation zwischen den ermittelten Östradiolwerten und dem LH-Zuwachs.

4. In keinem der drei Stadien stellt sich unter Naloxon eine FSH-Spiegelveränderung ein.

Die Resultate lassen zu dem Schluß kommen, daß endogene Opiate an der Kontrolle der LH-Sekretion im Verlauf des Menstruationszyklus Anteil nehmen. Vom frühen Follikel- bis zum mittleren Lutealstadium scheint sich eine progressive Sensibilitätszunahme in der LH-Reaktion auf den opiatantagonisierenden Naloxoneffekt zu entwickeln, die offenbar das Substrat einer im Ablauf dieser Zeitspanne ansteigenden LH-Sekretionshemmung durch endogene Opiate darstellt. Diese Vermutung wird durch die quantitativen wie qualitativen, naloxoninduzierten Unterschiede im LH-Spiegelmuster der drei Stadien bestärkt. Offensichtlich üben Östrogene und/oder Progesteron zunehmenden Feedback-Einfluß auf die Aktivität endogener Opiate im Bereich der Hypothalamus-Hypophysen-Achse aus, dem die wachsende LH-Ansprechbarkeit gegenüber Naloxon Rechnung trägt.
Einen interessanten Aspekt wirft die Beobachtung auf, daß Naloxon während der mittleren Lutealphase anscheinend nicht nur Amplituden, sondern auch Pulsfrequenz des "episodic release" von LH erhöht (Abb. 40). In diesem Stadium erreicht die Progesteron-Serumkonzentration ihren Höhepunkt bei relativ niedrigen Östrogenspiegeln (Abb. 39). Einer maximalen Antagonisierung des positiven Östrogen-Rückkopplungseffektes durch Progesteron steht also die

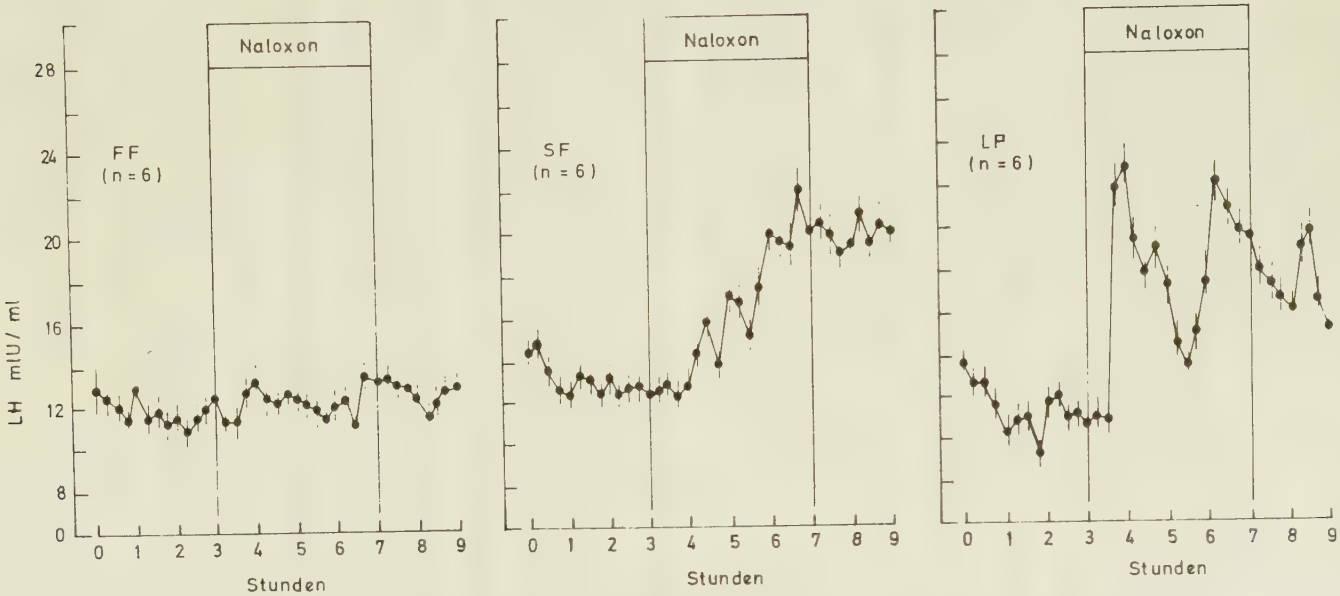


Abb. 40: Auswirkung einer Naloxoninfusion (1,6 mg/h über 4 Stunden) auf den mittleren LH-Serumspiegel gesunder Frauen während der frühen (FF), späten Follikel- (SF) und mittleren Lutealphase (LP) des Menstruationszyklus.
(nach QUIGLEY et al., 1980)

negative Östrogen-Feedbackwirkung auf die LH-Sekretion gegenüber. Betrachtet man vergleichend die Situation bei ovariektomierten oder postmenopausalen Frauen, wo mangels entsprechender Gonadensteroide das negative Östrogen-Feedbacksystem "enthemmt" ist, so fällt auf, daß auch in diesen Fällen der LH-Spiegel, bei häufiger auftretenden Amplituden, insgesamt deutlich angehoben ist. Demnach scheint Naloxon im mittleren Lutealstadium auf — durch entsprechende Rezeptorbesetzung mit endogenen Liganden gegebene — Voraussetzungen zu treffen, die es ihm ermöglichen, die Situation nach Ovariektomie "nachzuahmen".

10.2. PREOVULATORISCHER PROLACTINANSTIEG

Parallel zu den Untersuchungen, in welchen sie den Einfluß von Morphin und Naloxon auf die Ausprägung des preovulatorischen Gonadotropin-Peak weiblicher Ratten testeten, nahmen MURAKI et al. (1979) bei identischer Versuchsanordnung (Vgl. Tabelle 19) Serum-Prolactinanalysen vor, um Auswirkungen auf den Proöstrus-Prolactinsurge mit zu erfassen. Es stellte sich heraus, daß nach Verabfolgung von Morphin (50 mg/kg s.c.) um 12.00 und 14.00 Uhr eine signifikante Verminderung des 18.00 Uhr-Prolactinwertes, in allen anderen Experimentschritten dagegen keine deutliche Abweichung gegenüber entsprechenden Kontrolldaten zu verzeichnen ist.

Dieses Resultat löst angesichts der sonst vermerkten, prolactinstimulierenden Morphinwirkung einiges Erstaunen aus. Allerdings mag die hier verwendete, hohe Morphindosierung (50 mg/kg) einen pharmakologischen Opiateffekt in Betracht ziehen lassen.

Vorausgesetzt, dieses Ergebnis erführe Bestätigung durch weitere Experimente, müßte angenommen werden, daß die Induktion des Proöstrus-Prolactinanstiegs bei der Ratte über einen Mechanismus abläuft, der, ähnlich dem für die zyklische Gonadotropinfreisetzung, hemmendem Eingreifen durch Opioide ausgesetzt ist.

10.3. MET-ENKEPHALIN-KONZENTRATIONEN IN HYPOTHALAMUS UND HYPOPHYSE WÄHREND DES ÖSTRUSZYKLUS DER RATTE

In der Annahme, daß wechselnde Aktivität endogener Opiate während des Zyklusgeschehens sich in schwankenden Konzentrationen dieser Stoffe in den entsprechenden Hirnregionen äußern müßte, ermittelten KUMAR et al. (1979a) die Methionin-Enkephalingehalte in Hypothalamus und Hypophyse weiblicher Ratten im Verlauf des Östruszyklus.

Dazu wurden am Proöstrustag zwischen 10.00 und 12.00 Uhr, zwischen 14.00 und 15.00 Uhr, sowie am Östrus-, Metöstrus- und Diöstrustag zwischen 10.00 und 11.00 Uhr jeweils 6 Ratten dekapitiert. Von den sofort freipräparierten Gehirnen wurden die Areae preoptica et anterior hypothalami, der mediobasale Hypothalamus, sowie Hypophysenvorderlappen und Hypophysenhinter- / -zwischenlappen gewonnen. Aus den Gewebshomogenaten konnte einmal der Proteingehalt bestimmt, zum anderen nach einem Zentrifugierungsprozeß aus dem Überstand die Methionin-Enkephalinkonzentration mittels Radioimmunoassay gemessen werden. Zur Beurteilung der biologischen Aktivität des enthaltenen Met-Enkephalin wurde zusätzlich ein Bioassay durchgeführt, in welchem die Hemmung elektrisch induzierter Kontraktionen einer Meerschweinchen-Ileum-Präparation durch synthetisches Met-Enkephalin einerseits und den Gewebsextrakt andererseits verglichen wurden. Der daraus errechnete Met-Enkephalingehalt im Gewebsextrakt bewies weitgehende Über-

einstimmung mit den per Radioimmunoassay erhaltenen Daten.

Sowohl im Bereich der Areae preoptica et anterior hypothalami, des mediobasalen Hypothalamus, als auch des Hypophysenvorderlappens zeigen sich signifikante Fluktuationen des Met-Enkephalingehalts im Verlauf der verschiedenen Zyklusstadien (Abb. 41). Die Areae preoptica et anterior hypothalami weisen insgesamt höhere Konzentrationen auf als der mediobasale Hypothalamus, doch ist in beiden Regionen der Maximalwert zwischen 10.00 und 12.00 Uhr am Proöstrustag und in der Folge ein Abfall mit Minimalgehalten im Östrus zu registrieren. Die deutlichsten Änderungen während des Proöstrus machen sich im Hypophysenvorderlappen bemerkbar, wo zwischen 10.00 - 12.00 und 14.00 - 15.00 Uhr ein Konzentrationssturz auf etwa 42 % des Ausgangswertes eintritt, dagegen im Verlauf der übrigen Tage ein etwa gleichbleibender Level zu vermerken ist. Hypophysenzwischenlappen und Neurohypophyse demonstrieren zwar die absolut höchsten Gehalte an Met-Enkephalin, lassen jedoch im Zyklus keine deutlichen Schwankungen erkennen.

Die für mediobasalen Hypothalamus und Areae preoptica et anterior hypothalami erhaltenen Resultate liefern nicht nur eine erneute Bestätigung für die auffallend ähnliche Verteilung von endogenen Opiaten, LHRH, Noradrenalin, Dopamin und Östrogenen im Hypothalamus, und damit einen

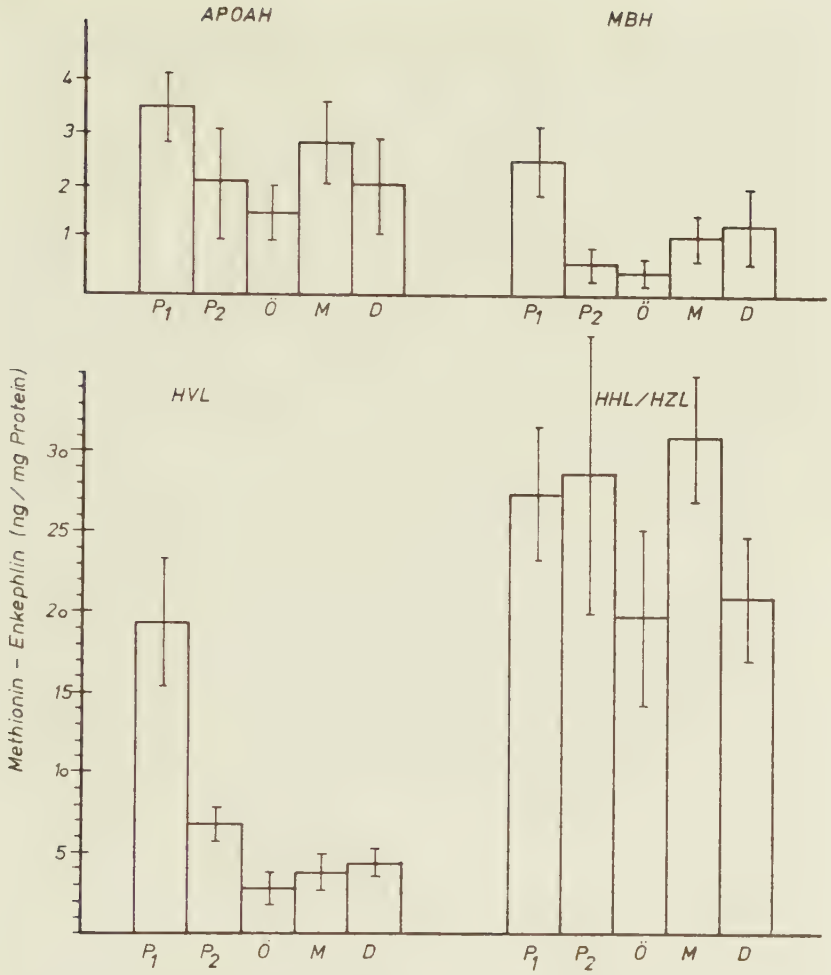


Abb. 41: Met-Enkephalingehalt von Areae preoptica et anterior hypothalami (APOAH), mediobasalem Hypothalamus (MBH), Hypophysenvorderlappen (HVL), sowie Hypophysenhinter- und -zwischenlappen (HHL/HZL) während verschiedener Stadien des Östruszyklus der Ratte (Mittelwerte ± Standardabweichung)

P_1 = Proöstrus: 10-12.00; P_2 = Proöstrus: 14-15.00 Uhr

Ö, M, D = Östrus, Metöstrus, Diöstrus: 10-11.00 Uhr

(nach Angaben von KUMAR et al., 1979a)

weiteren Hinweis auf eine Interaktion dieser Substanzen, sondern deuten außerdem die hohe Wahrscheinlichkeit einer Opioidbeteiligung an der neuroendokrinen Kontrolle des Zyklusgeschehens der Ratte an. Vergegenwärtigt man sich die im Plasma parallel zum hypothalamischen Met-Enkephalin-Konzentrationsabfall stattfindenden Steroidspiegelveränderungen, so zeigt sich, daß die Östrogene — bei schon zuvor kontinuierlich erfolgtem Anstieg — ihre höchsten Werte erreichen, während Progesteron — von tiefem Niveau ausgehend — relativ rasch hochklettert (Abb. 30). Den sich zu dieser Zeit einstellenden Hormonspiegeln wird die Signalauslösung für den 17.00 Uhr-LH-Surge zugeschrieben, d.h. es werden hiermit die Weichen für den positiven Östrogen-Feedback gestellt. Wenn endogene Opiate das Werkzeug für den negativen Feedback der Steroide bildeten, also unter Einschaltung dieser Substanzen die Gonadotropinspiegel auf der niedrigen Ebene gehalten würden, die als Zündschwelle die Voraussetzung für den LH- und FSH-Peak darstellt, dann ließe sich so der Met-Enkephalin-Konzentrationsabfall erklären, der parallel zur "Freigabe der gesperrten Strecke" eintritt.

Problematisch gestaltet sich der Versuch, dem Met-Enkephalinkonzentrationssturz im Hypophysenvorderlappen am Proöstrustag adäquate Bedeutung zuzumessen, zumal bisher von den meisten Autoren — allerdings auf der Grundlage von Untersuchungen an männlichen Tieren — eine Aktion endogener Opiate auf Hypophysenebene im Zusammenhang mit der Gonadotropinregulation als unwahrscheinlich angesehen wird.

Möglicherweise manifestiert sich jedoch direkter Einfluß dieser Substanzen auf die Hypophyse nur unter bestimmten Voraussetzungen. So vermuten KUMAR et al. (1979a), daß erst der hypophysäre Enkephalinabfall den Weg für die LHRH-induzierte LH-Freisetzung am Nachmittag des Proöstrus freimacht und damit das Erscheinen des LH-Peak "erlaubt". Andrerseits könnten Opioide in diesem Fall andere Funktionen innehaben, die nicht direkt mit der Gonadotropinkontrolle zusammenfallen, beispielsweise im Rahmen der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse oder — angesichts ihrer prolaktinstimulierenden Wirkung — bei der Induktion des Proöstrus-Prolaktin-Surge. Gegen diesen Aspekt spricht allerdings die Beobachtung, daß Morphin in der Lage ist, den proöstrischen Prolactinanstieg weiblicher Ratten zu unterdrücken (MURAKI et al., 1979), in dieser Situation also scheinbar hemmend auf die Mechanismen einwirkt, die die zyklische Freisetzung des Hormons induzieren.

10.4. MÖGLICHE ROLLE ENDOGENER OPIATE IM ZYKLUSGESCHEHEN

Zieht man in Betracht, daß einerseits im Gefolge von Morphinapplikation oder von Läsionen des ventralen, noradrenergen Traktes im Hypothalamus ein Ausbleiben von preovulatorischem LH- und Prolactin-Peak (McCANN et al., 1979; MURAKI et al., 1979; WUTTKE et al., 1980), andrerseits durch Morphin eine Reduktion noradrenerger Aktivität im Gehirn zu verzeichnen ist (STARKE, 1977; ARBILLA et al., 1978; MEITES et al., 1979a; SCHWARTZ, 1979; GOLD et al., 1979a; WILSON et al., 1980; PEPPER et al., 1980), so läßt sich die Hypothese aufstellen, daß die im Proöstrus zu beobachtende, morphinverursachte Gonadotropin- und Prolactinhemmung auf Inhibition des stimulierenden, noradrenergen Tonus zurückgeht.

Nachdem Noradrenalin mit hoher Wahrscheinlichkeit maßgeblich an der Ausführung des LH-Surge-Signals beteiligt ist, und aufgrund der fehlenden topologischen Orientierung noradrenerger Neurone dem Mechanismus der presynaptischen Inhibition besondere Bedeutung zukommt, mögen enkephalinerge Neurone hierbei eine wesentliche Rolle spielen, zumal die Existenz von Opiatrezeptoren an noradrenergen Terminalien (bzw. auch an Dendriten und Soma) bereits mehrfach nachgewiesen wurde (STARKE, 1977; SCHWARTZ, 1979; PEPPER et al., 1980).

Da außerdem östrogeninduzierte Beeinflussung der Met-Enkephalingehalte verschiedener Hirnregionen gezeigt, und

dabei die Area preoptica als ein Ort bevorzugter, im Anschluß an Östrogenapplikation auftretender Enkephalinanhäufung identifiziert wurde (DUPONT et al., 1980), könnte es sich bei den in dieser Region, wie im mediobasalen Hypothalamus in dichter Konzentration anzutreffenden, östrogenrezeptiven Zellen um enkephalinerge Neurone handeln, über die zur Zeit des negativen Östrogen-Feedback eine tonische Inhibition noradrenerger Aktionspotentiale stattfindet. Allerdings wird dadurch die Möglichkeit, daß diese Opioidwirkung unter Zwischenschaltung anderer Neurotransmitter abläuft, nicht ausgeschlossen.
In Tabelle 20 wurden die während des viertägigen Östruszyklus der Ratte in mediobasalem Hypothalamus und Areae preoptica et anterior hypothalami registrierbaren Noradrenalin-, Dopamin- und GABA-Turnover- bzw. Serotonin- und Met-Enkephalinkonzentrationsschwankungen einander schematisch gegenübergestellt.
Während Dopamin keine Turnoveränderungen ablesen läßt, demonstriert Noradrenalin am Nachmittag des Proöstrus deutliche Umsatzsteigerung. Serotonin unterliegt einem ausgeprägten, diurnalen Gehaltswechsel, dessen Rhythmik am Proöstrustag aufgehoben bzw. invertiert wird (WUTTKE et al., 1980). Von Turnoverstudien, wonach sich preoptischer und mediobasal-hypothalamischer Noradrenalin- und GABA-Umsatz an Di- und Proöstrusnachmittag jeweils entgegengesetzt darstellen, leiten WUTTKE et al. (1980) —ohne bisher Angaben über das GABA-Verhalten an den übrigen Tagen des Zyklus und am Proöstrusvormittag machen zu

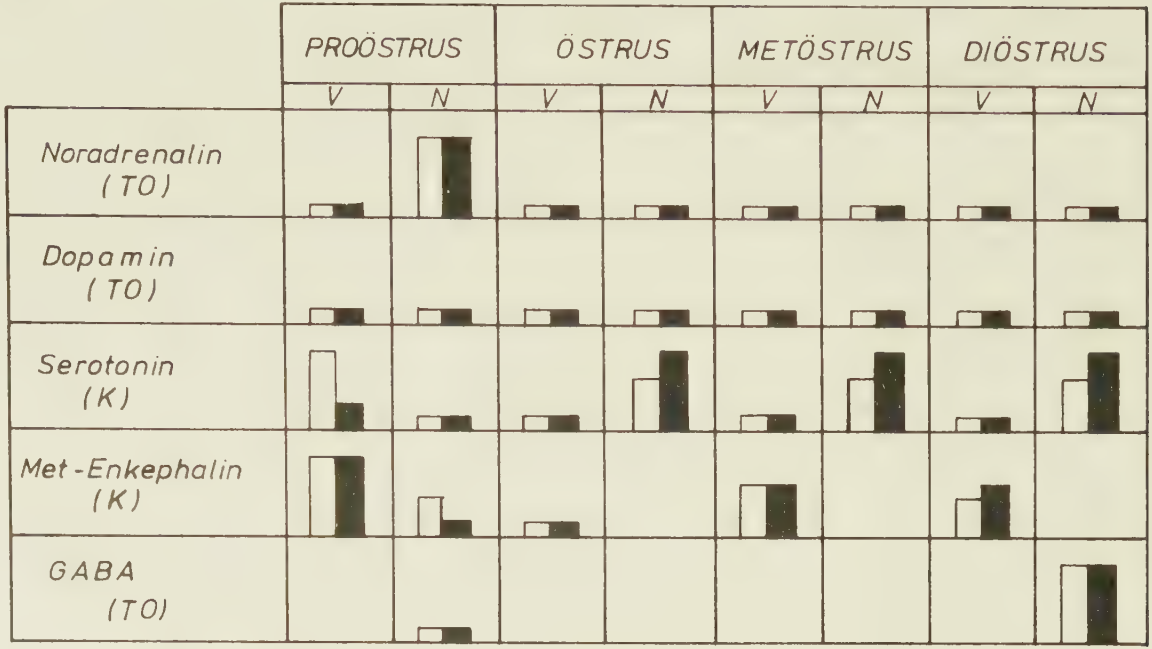
können — die Annahme ab, es handle sich bei den östrogenrezeptiven Zellen im Hypothalamus um GABAerge Neurone. Untersuchungen an ovariektomierten Ratten, bei denen, unabhängig von Östrogenvorbehandlung, Applikation von GABA in den 3. Ventrikel jeweils zu einer Stimulation der LH-Freisetzung Anlaß gibt, widersprechen jedoch dieser Vermutung, zumal sich die GABA-Aktion in diesem Zusammenhang als durch Bicucullin aufhebbar und damit offenbar spezifisch erweist (McCANN et al., 1979).

Wenn auch Turnovermessungen in ihrer Aussagekraft den Konzentrationsermittlungen prinzipiell überlegen sind, da sie sicherere Schlüsse auf die Aktivität neuronaler Strukturen zulassen, so kann doch aufgrund der Resultate von KUMAR et al. (1979a), die durch die häufigen Gehaltsbestimmungen einen gewissen Ausgleich schaffen, die Beteiligung enkephalinerger Systeme an der Vermittlung des negativen Östrogen-Feedback als sehr wahrscheinlich erachtet werden.

Daneben wäre es denkbar, daß sich an den postulierten, östrogenrezeptiven, enkephalinergen Nervenzellen, vornehmlich im Bereich der Area preoptica, auch die zur LH-Surge-Signalunterbrechung am Östrustag veranlassenden Progesteronrezeptoren befinden. Die Möglichkeit einer Beteiligung weiterer Neurotransmitter eingeschlossen, könnte die zur Interpretation der Ergebnisse von SYLVESTER et al. (1980) aufgestellte, arbeitshypothetische Grundlage (Vgl. Seite 210 ff) demnach durchaus realistische

Tabelle 20: Schematische Darstellung von vor- (V) und nachmittäglichen (N) Schwankungen in Turnoverrate (TO) bzw. Konzentration (K) verschiedener Überträgerstoffe im Bereich der Areae preoptica et anterior hypothalami (▭) und des mediobasalen Hypothalamus (▬) im Östruszyklus der Ratte.

(nach Angaben von KUMAR et al., 1979 und WUTTKE, 1980)



Züge aufweisen. Unterstützung für diese These erhält man zudem aus der Beobachtung, daß Implantation von kristallinem Östrogen in die Areae preoptica, suprachiasmatica et anterior hypothalami zu deutlicher Steigerung der "firing rate" dort ansässiger Neurone, Einbringung von Progesteron in diese Region dagegen abnehmende Aktionspotentialentwicklung preoptischer Nervenzellen induziert (SHARP et al., 1978; WUTTKE, 1980).

10.5. TOLERANZTHEORIE

Nachdem sich in den letzten Jahren gezeigt hatte, daß endogene Opiate eine Hoffnung, die in diese Stoffgruppe gesetzt worden war, nicht erfüllen, nämlich — entgegen aller Erwartung — sich auch bei diesen Substanzen hinsichtlich ihrer Rezeptorinteraktion Toleranzentwicklung bemerkbar macht, sollte dieses Phänomen zumindest für bestimmte Opioidfunktionen als eine physiologische "Arbeitsmethode" des Organismus angesehen werden dürfen.

Was bedeutet Toleranzentwicklung? Mit einfachen Worten erklärt, mag es sich bei dieser Erscheinung um die Reaktion einer Zelle bzw. eines zellulären Mechanismus auf längere Beeinträchtigung eines Gleichgewichtsverhältnisses handeln. So kann etwa die Beeinflussung cyclischer Nukleotide als ein solches Beispiel dienen: Durch Aktivierung von Opiatrezeptoren induzierte Adenylatcyclasehemmung veranlaßt die Zelle, im Bestreben, das Equilibrium aufrechtzuerhalten, ihrerseits zur Aktivierung des Enzymsystems, womit sie schließlich ein "neues Cyclo-AMP-Gleichgewicht" schafft. Fällt nun der Gegenpol, d.h. der Rezeptorligand, weg, liegt ganz plötzlich ein hyperaktiver oder hypersensibler Zustand vor, der heute als ein mögliches "Entzugssyndrom auf zellulärer Ebene" interpretiert wird.

Sollte es nicht möglich sein, daß der Organismus sich beispielsweise bei der Signalgebung für den LH-Peak dieses

"Werkzeugs" bedient? Damit würde der sogenannte "Priming-Effekt", von dem im Zusammenhang mit Steroid-Feedbackaktionen häufig die Rede ist, Gestalt annehmen,und die Beteiligung der unterschiedlichen Steroidderivate und ihrer Metaboliten an der Übermittlung der Rückkopplungseffekte erwiese sich als überaus sinnvolle Einrichtung zur körpereigenen "Variierbarkeit" dieses Mechanismus.
Entwickelt man diese Hypothese weiter, könnten viele Vorgänge im Organismus, die, zu veränderter Empfindlichkeit bzw. Ansprechbarkeit bestimmter Systeme führend, bisher wohl registriert, doch nicht erklärbar sind, eine Interpretation erfahren. Als Beispiele seien die Induktion der Pubertät wie zahlreiche Anpassungsphänomene im Ablauf der Gravidität angeführt. So beschreibt GINTZLER (1980) einen post partum bei Ratten zu beobachtenden, hyperalgetischen Zustand, der sich im Anschluß an eine, mit der Graviditätsdauer zunehmende, während der Geburt ihr Maximum erreichende Schmerzschwellenerhöhung einstellt (Siehe später). Die Egalisierbarkeit der antepartalen Empfindlichkeitsänderung durch Applikation von Opiatantagonisten läßt ihn die Beteiligung opioiderger Systeme an der Ausprägung dieses Phänomens vermuten. Demnach könnte es sich bei der vorübergehend vermerkbaren Hyperalgesie um ein "physiologisches Entzugssyndrom" handeln.

11. ENDOGENE OPIATE IN DER KONTROLLE NEUROHYPOPHYSÄRER HORMONSEKRETION

11.1. LEU-ENKEPHALINIMMUNOREAKTIVE NERVENBAHNEN IN DER NEUROHYPOPHYSE

Die Pars nervosa der Hypophyse verkörpert ein reichlich mit Nervenfasern ausgestattetes Gebiet, dessen Anteil an Axonen und Terminalien rund 42% seines Gesamtvolumens umfaßt. Dabei entspringt die Mehrzahl der Nervenfortsätze den magnozellulären Neuronen der Nuclei supraopticus et paraventricularis, einige auch den parvizellulären der Area suprachiasmatica, um — die mittlere Faserzone der Eminentia mediana bildend — an neurohypophysären Kapillaren zu endigen. Diese Oxytozin und Vasopressin produzierenden Neurone entwickeln Aktionspotentiale innerhalb ihrer Perikaryen, deren Zahl und Muster die in die Zirkulation zu entlassende Peptidquantität steuern. Unsicher ist bis heute, ob eine Modifizierung der Hormonfreisetzung auf der Ebene der Terminalien im Sinne einer presynaptischen Einwirkung erfolgt, und falls dies der Fall ist, ob es sich dabei um axo-axonale Synapsen oder entsprechende Rezeptoren für Substanzen handelt, die die Neurohypophyse von benachbarten Geweben aus erreichen (VAN LEEUWEN et al., 1979; GAINER et al., 1979; BROWNSTEIN et al., 1980).

Interessante Aspekte warf demzufolge die Entdeckung außerordentlich hohen Gehalts an immunoreaktivem Leucin-Enke-

phalin einerseits und einer erstaunlichen Dichte an Opiat-rezeptoren andrerseits in Neurohypophyse und Pars intermedia hypophysis auf (ROSSIER et al., 1977b; 1979b; 1980b; BLOOM et al., 1977; HUGHES et al., 1977; LLORENS-CORTES et al., 1977; AKIL et al., 1978; COX et al., 1978; LAW et al., 1978; GRÄF, 1978; DiGIULIO et al., 1979; LARSSON et al., 1979; TRAMU et al., 1979; KUBEK et al., 1980; WILKES et al., 1980; SMYTH et al., 1980). Dabei scheint zumindest ein Teil der Leu-Enkephalinimmunoreaktivität in diesen Regionen auf das erst kürzlich in hoher Konzentration im Neurallappen identifizierte, die Aminosäuresequenz von Leucin-Enkephalin enthaltende und mit diesem kreuzreagierende Dynorphin (Vgl. Abb. 2b) zurückzugehen (GOLDSTEIN et al., 1979; HUGHES, 1981).

Indirekte, immunozytochemische Untersuchung enthüllte, daß feine, variköse, Leu-Enkephalin-Immunoreaktivität aufweisende Nervenfasern besonders dicht in den Randbezirken der Pars nervosa, in der Pars tuberalis hypophysis, wie auch in den Nuclei supraopticus et paraventricularis hypothalami vertreten, dagegen dem Zentrum der Neurohypophyse zu in immer schwächerem Maße aufspürbar sind (ROSSIER et al., 1979b; 1980b). Nach Vorbehandlung mit Colchizin werden in beiden hypothalamischen Nuclei Leu-Enkephalin enthaltende Zellkörper sichtbar, von welchen aus feine Äste, dem Weg der magnozellulären, neurosekretorischen Axone zur Pars nervosa hypophysis folgend, die Area lateralis hypothalami durchqueren. Etwa eine Woche nach Läsion des mediobasalen

Hypothalamus oder Durchtrennung des Hypophysenstiels verschwinden diese Fasern aus der Neurohypophyse (ROSSIER et al., 1979b; 1980b). Ohne den ß-Endorphingehalt in Adenohypophyse oder Pars intermedia anzutasten, zieht Schädigung des Nucleus paraventricularis 40%igen, zusätzliche Läsion des Nucleus supraopticus 90%igen Verlust an Leu-Enkephalin-Immunoreaktivität in Hypophysenhinter- und -zwischenlappen nach sich (COX et al., 1978; BAIZMAN et al., 1979; ROSSIER et al., 1979b; 1980b).

Demnach bieten sich primär zwei mögliche Interpretationen für die Funktion der neurohypophysären, leu-enkephalinimmunoreaktiven Nervenbahnen an: Einerseits könnten hier Opioide selbst als Neurohormone in die Zirkulation entlassen werden, andrerseits in irgendeiner Weise Einfluß nehmen auf die Sekretion von Vasopressin und/oder Oxytozin.

11.2. VASOPRESSIN UND ENDOGENE OPIATE

Bei Versuchen, der Bedeutung der leu-enkephalinergen Nervenfasern in der Neurohypophyse auf die Spur zu kommen, gelang es ROSSIER et al. (1979b; 1980b), an männlichen Ratten im Gefolge fünftägiger Substitution des Trinkwassers durch 2%ige NaCl-Lösung, neben einer Reduktion der neurohypophysären Vasopressinspeicher um rund 80 %, einen Leu-Enkephalinverlust von mehr als 60 % in der Pars nervosa zu registrieren. Hypothalamischer Leu-Enkephalin-, TRH- und Somatostatingehalt bleiben ebenso unangetastet, wie die neurohypophysären Konzentrationen der beiden letzteren Peptide, womit der Schluß naheliegt, daß es sich hierbei um einen spezifischen Mechanismus handelt. Diese Annahme findet darüberhinaus Unterstützung in der Beobachtung, daß homozygote Brattleboro-Ratten im Vergleich zu heterozygoten außer sehr niedrigen, neurohypophysären Leu-Enkephalinwerten, deutlich verminderte Anzahl, wie Abweichung in Verteilung und Morphologie hypothalamischer Enkephalinfasern aufweisen (ROSSIER et al., 1979b; 1980b).

Im Gegensatz zu ROSSIER et al. (1979b; 1980b), die im Anschluß an mehrtägigen Trinkwasserersatz durch 2%ige NaCl-Lösung den ß-Endorphingehalt in Hypophysenvorder- und -zwischenlappen männlicher Ratten unverändert vorfinden, notieren andere Autoren bei Ratten und Mäusen nach derselben Prozedur signifikanten Konzentrationsabfall des

Peptids in beiden Regionen (COX et al., 1978; CHENG et al., 1979a; BAIZMAN et al., 1979). Sie interpretieren diese Beobachtung zunächst als Hinweis darauf, daß neben Vasopressin, Oxytozin und MSH auch hypophysäres ß-Endorphin einer Beeinflussung durch hypertone Salzlösungen unterliegt.

Diesen Resultaten zufolge dürfte nicht nur eine mutmaßliche Beteiligung der neurohypophysären, leu-enkephalin-immunoreaktiven Substanzen an der Kontrolle der Vasopressinsekretion, sondern zudem die Möglichkeit für eine Interaktion von Vasopressin und hypophysärem ß-Endorphin gegeben sein. Während in-vitro-Versuche an Hypophysenvorderlappen von Ratten, in welchen Vasopressin ß-Endorphin freisetzende Eigenschaften demonstriert, Vasopressin als physiologischen Releasing-Faktor für adenohypophysäres ß-Endorphin postulieren lassen (HERZ et al., 1980), wäre umgekehrt auch eine Stimulation der Vasopressinsekretion durch Pars distalis- und/oder Pars intermedia-ß-Endorphin in Betracht zu ziehen. Der nach Applikation hypertoner Salzlösungen vermerkte ß-Endorphingehaltssturz in Hypophysenvorder- und -zwischenlappen (COX et al., 1978; BAIZMAN et al., 1979) spräche prinzipiell für beide Möglichkeiten. Allerdings kann, insbesondere im Falle des adenohypophysären ß-Endorphinkonzentrationsabfalls, ein direkter osmotischer Effekt auf Hypothalamus und Hypophyse, der — eventuell im Sinne eines Stressors wirksam — die ß-En-

dorphinfreisetzung unabhängig von Vasopressin induziert haben könnte, nicht ausgeschlossen werden.

Überhaupt ist bis heute umstritten, ob, unter welchen Gegebenheiten und in welche Richtung eine Modulierung der Vasopressinsekretion durch Opioide erfolgt. Bestanden schon länger Hinweise auf eine antidiuretische bzw. ADH-stimulierende Wirkungskomponente von Morphin, der unter anderem ein post iniectionem zu beobachtender, reduzierter Harnabsatz angelastet wurde, und die nun von einigen Autoren auch Opioidpeptiden zugeschrieben wird, mehren sich demgegenüber in letzter Zeit Vermutungen einer opiatverursachten Hemmung der ADH-Freisetzung (JAFFE et al., 1975; HUIDOBRO-TORO et al., 1979; BAIZMAN et al., 1979; VAN WIMERSMA GREIDANUS et al., 1979; IVERSEN et al., 1980; ROSSIER et al., 1980b). Daneben mögen, speziesunterschiedlich, Verminderung der glomerulären Filtrationsrate im Gefolge opiatinduzierter Hypotonie oder im Zusammenspiel mit weiteren, kardiovaskulären Effekten dieser Substanzen, ebenso wie opiatbedingte Beeinflussung adrenaler Hormonsekretion die Interpretation erschweren (KOKKA et al., 1973; JAFFE et al., 1975; KNOLL, 1976; FRENCH et al., 1977; HOLADAY et al., 1977; 1978a; KONTUREK et al., 1978; HANKO et al., 1978; VOLAYKA et al., 1979; SIMANTOV, 1979; SIMANTOV et al., 1980; KUMAKURA et al., 1980; Yang et al., 1980; FADEN et al., 1980; HERNÁNDEZ

et al., 1980; SCHAZ et al., 1980; WHARTON et al., 1980; WEI et al., 1980; HUGHES, 1981). Unklar ist auch, ob die stellenweise Prolactin zugedachte, osmoregulatorische Aktion in ursächlichem Zusammenhang mit opioidverursachter Einwirkung auf den Wasserhaushalt steht (TINDAL, 1978).

11.3. BEEINFLUSSUNG DER OXYTOZINSEKRETION DURCH ENDOGENE OPIATE

11.3.1. Pilotversuche

Den ersten, eindeutigen Hinweis auf eine opiatinduzierte Beeinflussung der Oxytozinausschüttung erhält man durch die von HALDAR und SAWYER (1978) an laktierenden Mäusen zwischen dem 11. und 22. Tag post partum durchgeführten Untersuchungen. Vor wie nach jeweils 60 minütigem Saugen — dem vier Stunden Trennung von den Müttern vorausgegangen waren — wurden alle Jungen gewogen, die Gewichtsdifferenzen ermittelt und als "initialer Milchertrag" in g/100 g Körpergewicht dem "Residualmilchertrag", der im Anschluß an eine weitere, halbe Stunde Saugen bestimmt werden konnte, gegenübergestellt. Vor der zweiten Saugperiode erhielten die Mütter Oxytozin (0,25 I.E. i.p.).

Butorphanol (5 und 10 mg/kg s.c.) oder Oxilorphan (10 und 15 mg/kg s.c.), zwei synthetische Morphinanaloge, die beide — letzterer in stärkerem Maße — über partiell opiatantagonistische Wirkung verfügen, führen, vor der einstündigen Säugeperiode den Müttern injiziert, zu einer Reduktion des Initialmilchertrags, die nach Butorphanol deutlich stärkere Ausprägung erfährt. Dabei kommt die opiatverursachte Hemmwirkung am stärksten (15 % Initialmilch im Vergleich zur Kontrolle) bei Verabfolgung unmittelbar vor Ansetzen der Jungen zum Tragen, während der Effekt umso geringer ausfällt, je früher die Injektion vorge-

nommen wird (30 Min.: ca. 45 %; 60 Min.: ca. 70 %; 120 Min.: ca. 80 %) (Abb. 42a).

Morphin, als reiner Agonist (10 mg/kg s.c.), erzielt gar 95 %ige Verminderung des Initialmilchbetrages, während der Opiatantagonist Naloxon in einer Dosierung von 5 mg/kg keine Abweichung bzw. von 10 mg/kg deutliche Erhöhung der Initialmilchmenge provoziert. Injektion von Naloxon, 10 Minuten vor Morphin (10 mg/kg s.c.), führt dosisabhängig zu partieller (5 mg) bzw. kompletter Aufhebung (10 mg) der Opiatwirkung (Abb. 42b).

Einerseits läßt der im Vergleich zu Kontrolltieren unveränderte, ja sogar leicht erhöhte "Totalmilchertrag" — also die Summe von Initial- und nach Oxytozinapplikation gemessener Residualmilchmenge — opiatinduzierte, intramammäre Milchreduktion ausschließen. Andrerseits kann aus der Beobachtung an anästhesierten Mäusen, wonach Oxytozin (0,1 I.E. i.v.), eine Minute und anschließend in je fünfminütigen Intervallen nach Morphin (10 mg/kg) injiziert, die nämliche, durch intramammäre Druckerhöhung charakterisierte Milchejektionsreaktion auslöst, wie ohne vorangegangene Opiatgabe(HALDAR et al., 1978), gefolgert werden, daß dem Morphineffekt keine Sensibilitätsänderung der Milchdrüse gegenüber endogenem Oxytozin zugrundeliegt.

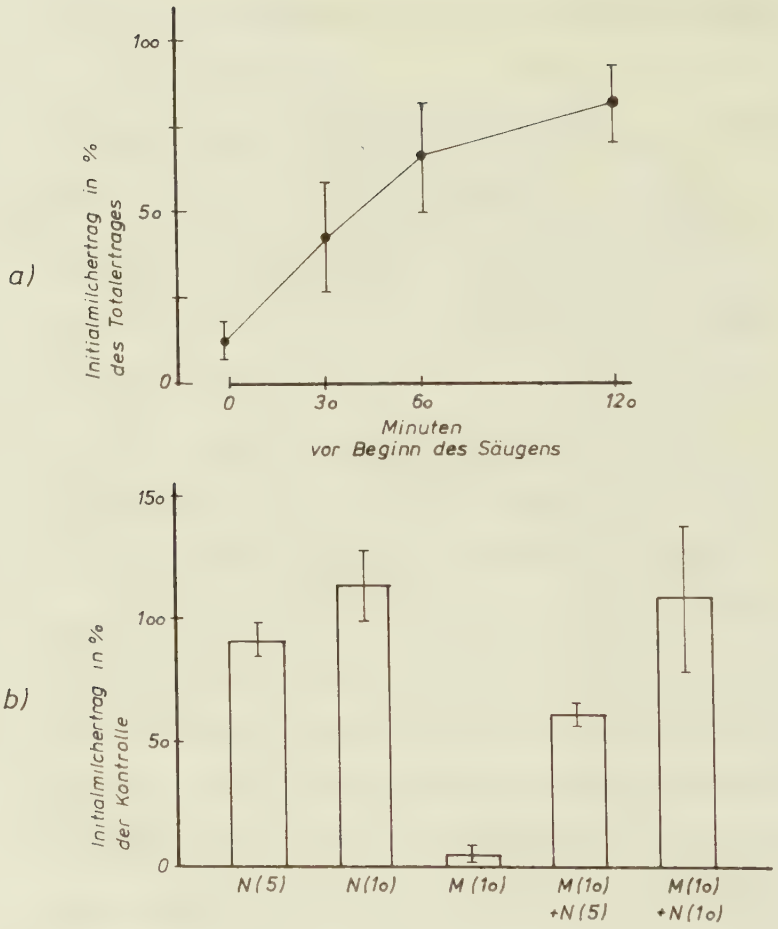


Abb. 42: (nach HALDAR und SAWYER, 1978)

a: Auswirkung des Injektionszeitpunktes vor Beginn des Säugens (= Zeit 0) auf die butorphanolinduzierte (10 mg/kg s.c.) Verminderung des Initialmilchertrages bei Swiss Webster Mäusen;

b: Effekt von Morphin (M; 10 mg/kg s.c.) bzw. von Naloxon (N; 5 bzw. 10 mg/kg s.c.) bei Injektion unmittelbar vor Beginn des Säugens oder von beiden Drogen (Naloxoninjektion 10 Min. vor Morphin) auf den Initialmilchertrag bei Swiss Webster Mäusen.

11.3.2. Wirkungsort und Wirkungsmechanismus

Weisen die Resultate von HALDAR und SAWYER (1978) auch deutlich auf einen zentralen Opiatangriffspunkt bei der Beeinflussung der Oytozinfreisetzung hin, so lassen sie doch die Fragen nach dem Wo und Wie offen, die sich schließlich CLARKE et al. (1979) im Rahmen ihrer Experimente an laktierenden Ratten stellen.

An anästhesierten Tieren (Urethan, 1,25 g/kg i.p.) werden die supraoptischen Neurone mittels antidromer Stimulation von der Neurohypophyse aus identifiziert, wobei das Muster spontaner, wie rund 10 Sekunden vor jeder Milchejektion explosionsartig zunehmender Aktionspotentialentladung deren Klassifizierung als oxytozinerge Nervenfasern ermöglicht. Bei parallel stattfindender, intramammärer Druckermittlung als Maß für die Oxytozinsekretion, dienen zum einen mehrstündiges Saugen zehn hungriger, junger Ratten (8 Tage alt), zum zweiten intracerebroventrikuläre Carbacholinjektion (0,2 µg), und schließlich elektrische Anregung der Neurohypophyse als adäquate Stimuli.

Es zeigt sich, daß Morphin (2-4 µg i.c.v.) die durch Saugen ausgelösten, in fünf- bis fünfzehnminütigen Intervallen erfolgenden Milchejektionen bei 11 von 12 Ratten über mehr als eine Stunde auszuschalten vermag, wobei die oxytozinergen Neurone in Periodizität und Ausmaß unveränderte, den Milchejektionsintervallen entsprechende, elektrische Aktivität demonstrieren, ohne Oxytozinfreisetzung registrier-

bar werden zu lassen. Des weiteren kann Morphin

— die carbacholinduzierte, durch anhaltende Oxytozinausschüttung charakterisierte, über einige Minuten verweilende, intramammäre Dauerkontraktion eliminieren und

— die nach intermittierender Elektrostimulation zu verzeichnende Oxytozinentladung deutlich reduzieren bzw. bei 3 von 5 Ratten schließlich auslöschen.

Sämtliche Morphineffekte werden durch den Opiatantagonisten Naloxon (0,6 - 10 mg/kg i.v.) aufgehoben, der zudem, allein (10 mg/kg i.v.) verabfolgt, den reaktiven, intramammären Druckanstieg auf Saugen signifikant verstärkt, ohne die Periodizität der Ejektionen anzutasten. Interessanterweise stellt sich außerdem bei zwei Ratten, die zuvor kein Milcheinschießen hatten beobachten lassen, auf Naloxonverabfolgung hin deutlich vermerkbare, intramammäre Druckantwort ein.

Auch in diesen Experimenten veranlaßt keine der Behandlungen zu veränderter Reaktion vonseiten der Milchdrüse auf exogen zugeführtes Oxytozin.

Die Tatsache, daß Morphin — ohne die elektrische Aktivität der oxytozinergen Neurone in Muster oder Grad zu beeinträchtigen — die freigesetzte Oxytozinmenge signifikant zu vermindern vermag, läßt den Schluß zu, daß Opiatrezeptoren weder die Aktionspotentialentwicklung magnozellulärer Neurone beeinflussen, noch direkt in die Übertragung des Saugreizes von den Zitzenrezeptoren zum Hypo-

thalamus einbezogen sind, die Opiataktion also an oder nahe bei den neurophyophysären Terminalien statthaben muß.

Aus den Beobachtungen bei alleiniger Naloxongabe, wonach der Opiatantagonist sowohl signifikante, intramammäre Druckerhöhung, als auch Effektivitätssteigerung der elektrischen Stimulation und Potenzierung der carbacholinduzierten Oxytozinentladung erzeugt, ergibt sich die hohe Wahrscheinlichkeit einer tonischen Unterdrückung der Oxytozinausschüttung durch endogene Opiate. Diese Annahme erfährt Unterstützung dadurch, daß nach ß-Endorphin und [D-Ala^2-Met^5] -Enkephalin eine Hemmung des Oxytozin-Release ähnlich wie nach Morphin registrierbar wird (CLARKE et al., 1979).

Allerdings muß bei der Interpretation dieser Resultate die Durchführung der Experimente an urethananästhesierten Tieren als ein Gesichtspunkt berücksichtigt werden, dem unter Umständen Bedeutung zufallen könnte. Sollte Urethan stellenweise opiatähnliche Wirkungen entfalten, mag die Naloxonaktion zusätzlich auf Antagonisierung dieser Effekte gründen.

Da Opiaten presynaptisch-hemmender Einfluß auf sensible, afferente Fasern in Rückenmark und Hirnstamm, wie auf dopaminerge Neurone im Striatum zugeschrieben, und die Beeinträchtigung der Ca^{++}-Aufnahme durch die Terminalien als ein möglicher Opioidwirkungsmodus postuliert wird (DAVIES

et al., 1976; HONG et al., 1977; STARKE, 1977; SIMANTOV, 1978; CLARKE et al., 1979; KORDON, 1979; OKA et al., 1979; GUERRERO-MUNOZ et al., 1979; BARKER et al., 1980; OPMEER et al., 1980; MARWAHA et al., 1980; HUGHES, 1981), bildete ein Ca^{++}-abhängiger Prozeß auch im Fall der opioidinduzierten Oxytozin-Inhibition eine einleuchtende Erklärung für den Aktionsmechanismus (Abb. 43).

Nachdem ENJALBERT et al. (1979a und b) eine Opioideinflußnahme auf hypophysäre, dopaminerger Inhibition unterstehende Laktotrope ebenfalls im Sinne einer Einwirkung auf die zellulären Ca^{++}-Kanäle interpretiert hatten, deutete sich hiermit die Möglichkeit einer vom Ausgangsstatus abhängigen Beeinflussung dieses Systems an: auf der einen Seite Aufhebung des hemmenden Dopamineffektes auf grundsätzlich hochaktive, auf der anderen Seite Inhibition des auf Stimulation hin erfolgenden Aktivwerdens der Ca^{++}-Kanäle. Prinzipiell stellte sich so ein neuroendokriner Wirkungsmechanismus vor, bei dem die Kontrolle über zelluläre, elektrische Aktivität und Peptidfreisetzung dissoziieren, wobei es auch für Opioid-Rezeptor-Interaktionen —scheinbar lokalisationsabhängig— zahlreiche Hinweise auf eine über Beeinflussung cyclischer Nukleotide ablaufende Informationsübermittlung gibt (BRANDT et al., 1976; MINNEMANN et al., 1976; GOLDSTEIN et al., 1977; BIGGIO et al., 1978b; GUERRERO-MUNOZ et al., 1979; JACQUET, 1979; JEAN-BAPTISTE et al., 1980; PERT et al., 1980; SNYDER, 1980;

MARWAHA et al., 1980; HAZUM et al., 1980; HUGHES, 1981).

Somit bestünden im neurohumoralen System des Hypophysenhinterlappens mindestens zwei mögliche Wege einer Einflußnahme endogener Opiate auf die Oxytozinausschüttung:

1. Opioiderge — wobei Leu-Enkephalin und Dynorphin bevorzugte Kandidaten darstellen — Terminalien mögen in Kontakt mit oxytozinergen, den neurohypophysären Kapillaren dicht benachbart endigenden Neuronen stehen und über presynaptische Interaktion den Ca^{++}-Influx und damit die Oxytozinausschleusung behindern.
2. Humorale Faktoren könnten ihren Angriffspunkt in der Neurohypophyse über die vaskuläre Zirkulation erreichen, um mit presynaptisch an den magnozellulären Neuronen lokalisierten Opiatrezeptoren zu interagieren. Dabei müßten sowohl ß-Endorphin aus Adenohypophyse oder Pars intermedia, als auch Dynorphin, adrenale Opioide und humorales Endorphin als "Konkurrenten um diese Rolle" in Betracht gezogen werden. Des weiteren könnte — rein hypothetisch — plazentaren Opioidpeptiden, als einem speziell für den "Ausnahmezustand Gravidität und Geburt" vom Organismus eingerichteten, zusätzlichen System, hierbei erhebliche Bedeutung zukommen (Siehe später).

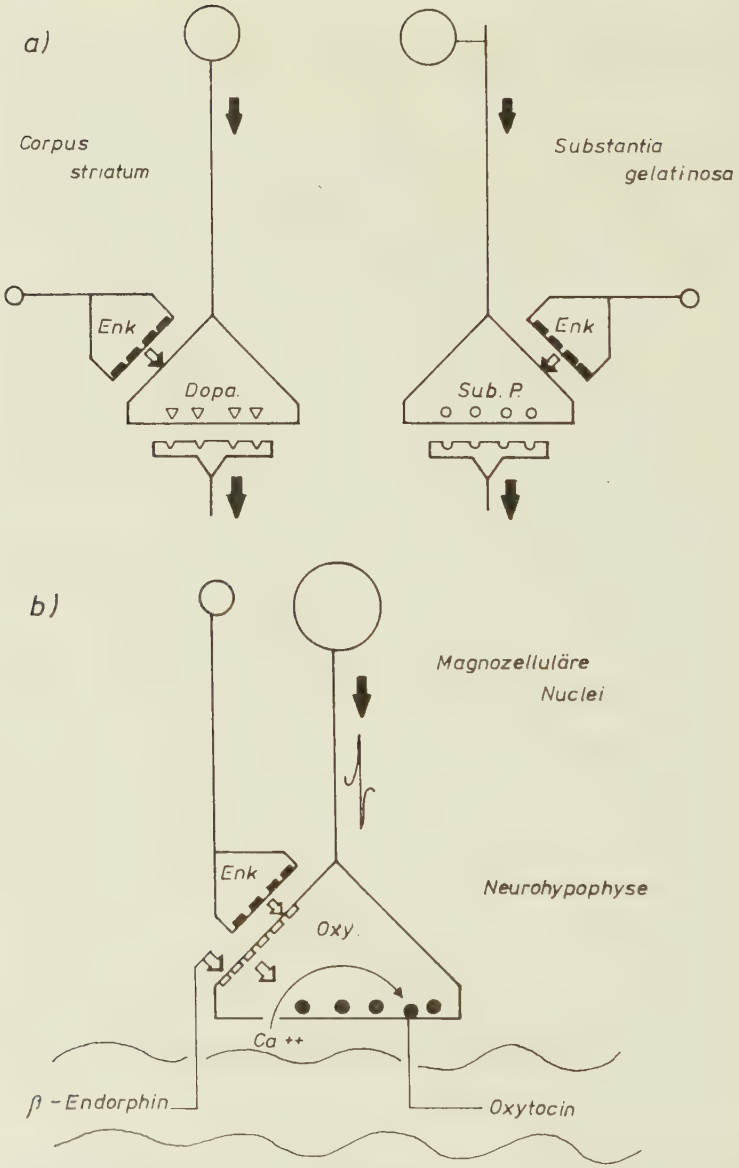


Abb. 43: Beispiele für postuliertes, regulierendes Eingreifen endogener Opiate in drei verschiedenen Teilen des Nervensystems

a: Presynaptische Hemmung der Dopaminfreisetzung im Striatum bzw. der Substanz P-Entladung im Rückenmark;

b: Zwei Wege für eine mögliche, opioidinduzierte Inhibition der Oxytozinsekretion.

(nach CLARKE et al., 1979)

Als ein interessanter Gesichtspunkt in diesem Zusammenhang sei die Beobachtung erwähnt, daß im Gefolge einstündigen Säugens bei weiblichen Ratten ein signifikanter (82 % Zuwachs gegenüber Kontrolltieren) Anstieg von ß-Endorphin in der Pars intermedia/nervosa hypophysis, verknüpft mit deutlicher Gewichtszunahme dieser Strukturen, jedoch keine Änderung des adenohypophysären Gehalts zu registrieren ist (BAIZMAN et al., 1979). Nachdem Saugen einen Stimulus darstellt, der eine ganze Reihe von Hormonen einbezieht, also neben Freisetzung und Synthese von Oxytozin und Vasopressin, unter anderem Reduktion hypophysärer MSH- und Prolactinkonzentration, wie Anhebung von Prolactin- und Corticosteron-Plasmawerten induziert (COX et al., 1978; BAIZMAN et al., 1979), läßt sich die Ursache für die ß-Endorphinerhöhung im Augenblick nicht sicher darlegen. Der prinzipiellen Möglichkeit einer Entlassung von Pars-intermedia-ß-Endorphin in die allgemeine Blutzirkulation stehen intrahypophysäre Angriffspunkte, wie retrograder Transport zum Hypothalamus (BERGLAND et al., 1979; MEZEY et al., 1979), bei dort im Rahmen der verschiedensten Aufgaben statthabender Interaktion mit Opiatrezeptoren, gegenüber. Dennoch könnte man den vermehrten ß-Endorphingehalt im Anschluß an Saugen als weiteren, hypothetischen Aspekt im Zusammenhang mit der Oxytozinkontrolle ansehen, wenn man sich vorstellt, daß unter diesem Stimulus eine durch Pars-intermedia-ß-Endorphin

ausgeübte, tonische Inhibition des Oxytozin-Release zeitweise stärker "in Schranken gewiesen", und demnach der ß-Endorphinfreisetzung "ein Riegel vorgeschoben" wird. Dann verkörperte der ß-Endorphinzuwachs in der Pars intermedia "angestautes" Peptid, das, simultan mit ACTH synthetisiert, unter bestimmten Bedingungen von der Hypophyse zurückgehalten, unter anderen aber gemeinsam mit ACTH (Stress) ausgeschüttet wird, so daß je nach Gegebenheiten eine differenzierte Steuerung beider Peptide erfolgen kann. In dieser Hinsicht ließe sich ein annähernder Vergleich zur variablen FSH- und LH-Sekretion Gonadotroper ziehen.

12. ENDOGENE OPIATE IN GRAVIDITÄT UND GEBURT

Bald nach der Entdeckung und Isolierung endogener Opioidpeptide konnte demonstriert werden, daß mit diesen körpereigenen Stoffen der bekannte, analgetische Effekt von Morphin — in Abhängigkeit von der Applikationsart — nachvollziehbar ist (GREVERT et al., 1977; HOLADAY et al., 1977; FREDERICKSON, 1977; 1978; MADDEN et al., 1977; NEALE et al., 1978; TERENIUS, 1978; VON KNORRING et al., 1978; FRENK et al., 1978; TESCHEMACHER, 1978; TAUBE, 1978; SCHULZ, 1978; FOLEY et al., 1979; KASTIN et al., 1979; YAKSH et al., 1979; KOSTERLITZ, 1979; GUILLEMIN, 1979; SPIAGGIA et al., 1979; RAMABADRAN et al., 1979; SJÖLUND et al., 1979; WESCHE et al., 1979; KUSCHINSKY, 1979; SHERMAN et al., 1980; OYAMA et al., 1980a und b; FIELDS, 1980; TSENG et al., 1980; UEDA, 1980; WOOD et al., 1980; MARWAHA et al., 1980; KUMAKURA et al., 1980; KIRBY, 1981). Damit war der Hinweis gegeben, daß der Organismus prinzipiell in der Lage sein müßte, aus eigener Kraft auf schmerzhafte Einflüsse — exogener wie endogener Natur — mit einer Änderung der Empfindungsschwelle zu reagieren. In der Folge stellten sich Bestrebungen ein, die physiologische Bedeutung dieses Systems aufzudecken bzw. adäquate Stimuli zu finden, die den Körper zur Freigabe seiner schmerzdämpfenden Fähigkeiten veranlassen. Darüberhinaus war endlich der Weg aufgezeigt, der Akupunktur, die bislang einer wissenschaftlichen Begründung ihrer analgetischen

Potenz entbehrte, den Stellenwert zuzuweisen, der ihr in der Medizin zusteht (POMERANZ et al., 1976; POMERANZ, 1977; SJÖLUND et al., 1977; 1979; TESCHEMACHER, 1978; WEN et al., 1978; CHENG et al., 1979a und b; 1980; CLEMENT-JONES et al., 1979; GANG ZOU, 1979; CHUNG et al., 1980).

Auf der Suche nach Situationen, in denen die analgetischen Eigenschaften endogener Opiate zum Tragen kommen würden, lag es nahe, an die Geburt zu denken, einen physiologischen, mit — wenngleich von Spezies zu Spezies und individuell variierenden — erheblichen Schmerz- und Stressreaktionen vonseiten des Organismus verbunden Vorgang.

12.1. BEEINFLUSSUNG DER SCHMERZSCHWELLE DURCH ENDOGENE OPIATE

Eine Antwort auf die Frage, ob sich während Gravidität und Geburt eine Änderung der Schmerzempfindung, und damit ein Hinweis auf agierende, endogene Opiate zu erkennen geben würde, erhielt GINTZLER (1980) in seinen Experimenten an trächtigen Ratten, die er in ein- bis dreitägigen Intervallen 16 Tage ante bis 41 Tage post partum elektrischen Footshocks aussetzte. Eine zweite Gruppe gravider Weibchen wurde nach vorangegangener Implantation von Langzeit-Naltrexon-Pellets bis zum Geburtstermin auf die gleiche Weise getestet. Als Kontrolle dienten jeweils entsprechend behandelte, nicht trächtige Tiere. Die Ermittlung der Schmerzschwelle erfolgte, beginnend bei 0,1 mA über 0,3 Sekunden, durch schrittweise, um je 0,05 mA gesteigerte Intensität der in 20 sekündigen Abständen applizierten Elektroschocks. Zweimal hintereinander erfolgendes, gleichzeitiges Abheben beider Vorderpfoten vom Gitterboden ließ die Schwelle auf die geringere der beiden auslösenden Intensitäten festlegen.

Wie aus Abbildung 44 zu entnehmen ist, demonstrieren hochträchtige Ratten, sowohl im Vergleich zu der 16 Tage ante partum ermittelten ($p < 0,01$), wie zu der bei nicht graviden Tieren registrierten, basalen Schmerzempfindungsgrenze ($p < 0,001$), deutliche Anhebung der Reaktionsschwelle vor der Geburt. Dagegen wird innerhalb der Kontrolldaten zu keiner Zeit signifikante Abweichung vom 1. Test-

tag ablesbar (Abb. 44). Ferner zeigt sich bei graviden Tieren eine charakteristische Kurvenform mit vom 16. bis 4. Tag ante partum schrittweisem Anwachsen, in den letzten beiden Tagen vor dem Geburtstermin abruptem Hochschnellen und post partum plötzlichem Abfall, abgelöst von langsamerem Sinken der Werte, wobei sich am 11. und 14. Tag post partum deutliche Empfindlichkeitssteigerung abzeichnet (Abb. 44). Subkutan implantierte Naltrexonpellets führen zu signifikanter Abflachung der Kurve bei graviden Ratten, während sie bei Kontrolltieren keinen registrierbaren Einfluß auf die Ausprägung der Schmerzschwelle nehmen (Abb. 45).

Dieses Ergebnis veranlaßt GINTZLER zu der Hypothese, daß es im Ablauf der Trächtigkeit zu gradueller Aktivierung von — im nicht graviden Zustand stillgelegten — endogenen, schmerzmodulierenden Mechanismen kommt, die ihre Maximalwirkung 1-2 Tage ante partum erreichen. Während der postpartalen Periode scheint dann dem Einpendeln auf Normalwerte ein kurzzeitig hyperalgetisches Stadium vorauszugehen.

Die Egalisierbarkeit der antepartalen Schmerzschwellenerhöhung durch den Opiatantagonisten Naltrexon deutet wohl die Beteiligung opioiderger Prinzipien an der Vermittlung der nociceptiven Sensibilitätsänderung vor der Geburt an, bietet jedoch noch keinerlei Anhaltspunkte über Charakter, Wirkungsort und Aktionsmodus dieser Systeme. Interessante Hinweise diesbezüglich sind aus Arbeiten zu entnehmen, die sich mit der analgetischen Wirksamkeit verschiedener Opioide in Abhängigkeit von der Applikationsart befassen.

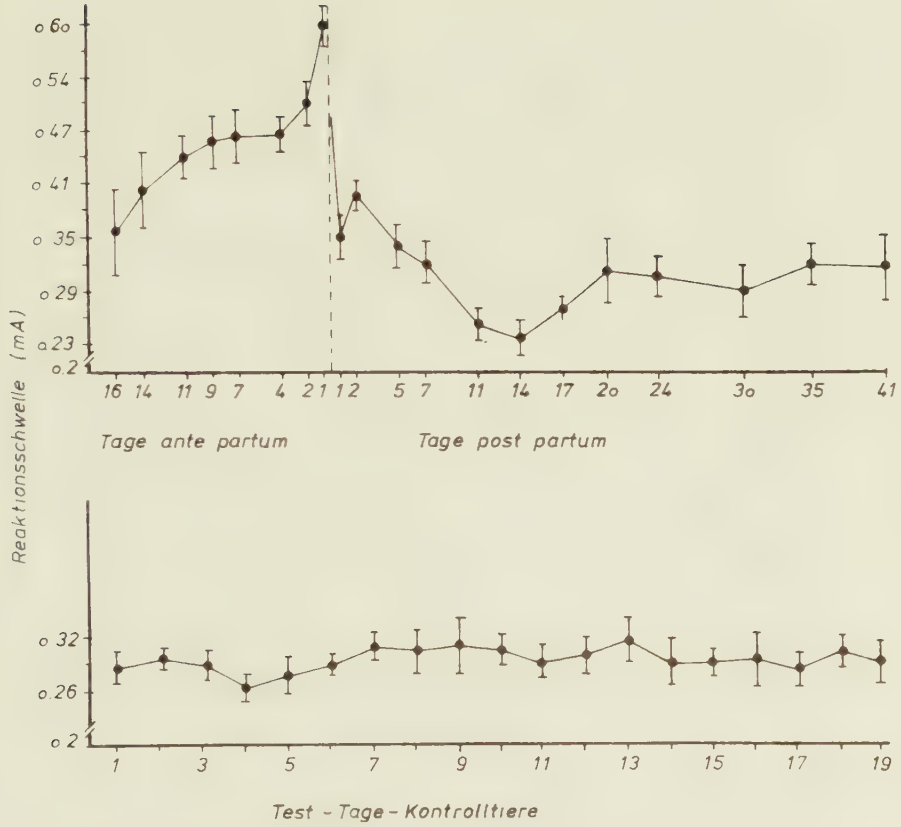


Abb. 44: (nach GINTZLER, 1980)

oben: Änderung der mittleren Schmerzschwelle (Reaktionsschwelle auf Applikation elektrischer Footshocks steigender Intensität) bei weiblichen Ratten ante und post partum (n = 8 für jeden Punkt).

unten: Mittlere Schmerzschwelle nicht trächtiger, weiblicher Kontrollratten bei wiederholter Applikation elektrischer Footshocks an aufeinanderfolgenden Testtagen (n = 7 für jeden Punkt).

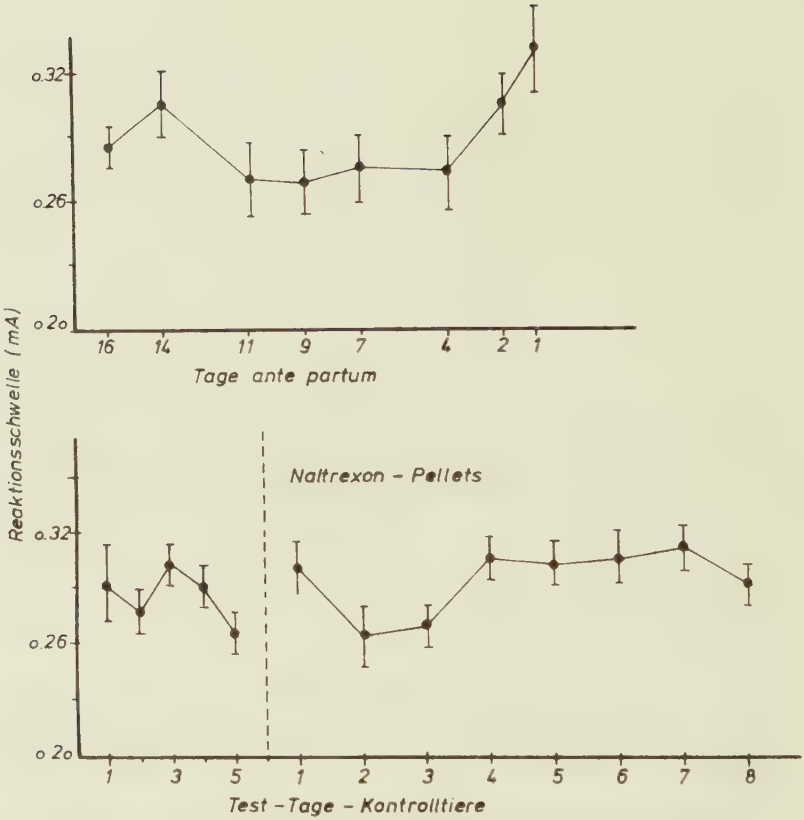


Abb. 45: (nach GINTZLER, 1980)

oben: Einfluß von Opiatantagonisten auf die mittlere Schmerzschwelle (Reaktionsschwelle auf Applikation elektrischer Footshocks steigender Intensität) gravider Ratten bis zum Geburtstermin (Testbeginn einen Tag nach Implantation zweier Naltrexonpellets) (n = 7 für jeden Punkt).

unten: Basale (links) bzw. unter Naltrexoneinwirkung registrierbare Schmerzschwelle (rechts) nicht trächtiger, weiblicher Kontrollratten bei wiederholter Applikation elektrischer Footshocks an aufeinanderfolgenden Testtagen (n = 7 für jeden Punkt)

12.2. ANALGETISCHE WIRKSAMKEIT VON OPIOIDEN IM RAHMEN DER GEBURT

Übereinstimmende Berichte hinsichtlich der hervorragenden, analgetischen Opioideffekte nach intrathekaler Applikation im Rahmen der Geburt bringen einerseits YAKSH et al. (1979), die Morphin in niedriger Dosierung an Ratten (15, 45 oder 100 µg) bzw. Kaninchen (80 µg) ante partum verabreichten und mittels Tail-Flick-, Hot-Plate- (Ratten) oder Skin-Twitch-Test (Kaninchen) die analgetische Wirkung prüften, andrerseits OYAMA et al. (1980a), die 14 geburtshilflichen Patientinnen synthetisches, humanes ß-Endorphin (1 mg) injizierten. In beiden Untersuchungen wird den intrathekal verabfolgten Opioiden, bei rasch einsetzender, langanhaltender Analgesie, jegliche Einflußnahme auf Zeitpunkt des Geburtsbeginns, Lebensfrische der Neugeborenen, Respirationsrate von Mutter oder Nachwuchs, kardiovaskuläre und motorische Funktionen abgesprochen. Bei ungewöhnlich geringen Blutverlusten registriert OYAMA (OYAMA et al., 1980a) weder abweichende Blutgaswerte, noch Hypothermie. Darüberhinaus schreibt er: "...normal uterine contractions were maintained and all women were fully conscious and highly cooperative in the delivery process .... Uterine contraction after delivery was excellent ...".

Nach intravenöser Morphinapplikation (3, 10, 20 mg/kg) dagegen vermerkt YAKSH (YAKSH et al., 1979) — dosisabhängig — bei Neugeborenen verminderte Respirations-, wie erhöhte Sterblichkeitsrate innerhalb der ersten Stunde post partum.

Bar derartiger Nebenwirkungen entbehren endogene Opiate nach systemischer Injektion auch in hohen Dosen weitgehend einer analgetischen Potenz. Die Ursachen dafür mögen zum einen in der raschen Inaktivierung, zum anderen in der Unfähigkeit liegen, die Bluthirnschranke (und die Plazentarschranke!) in nennenswertem Umfang zu überschreiten, zumal langlebigere, gegen Degradierung geschützte (z.B. [D-Ala^2]-ß-Endorphin), bzw. lipophilere Analoge (z.B. [D-Ala^2-Met^5]-Enkephalinamid) selbst nach intravenöser oder intraperitonealer Injektion die Fähigkeit zur Reduktion der Schmerzempfindung beweisen (KASTIN et al., 1979; RAPOPORT et al., 1980; WAHLSTRÖM et al., 1980; OYAMA et al., 1980b).

Übertragen auf endogene Opiate, legen diese Beobachtungen den Schluß nahe, daß zumindest einige der im Blut anzutreffenden, höher molekularen Peptide mit Opiatpotenzen opioidergen Systemen im Organismus angehören, die nicht unmittelbar mit der Nociception verknüpft sind, sondern andere, im einzelnen noch ungeklärte Aufgaben im Körper zu erfüllen haben. Auch hier ergibt sich also der Hinweis auf die Existenz unterschiedlicher, opioiderger Prinzipien, die ihren Ausdruck nicht zuletzt in der Vielzahl verschiedener, endogener Peptide mit Opiatwirkung findet.

12.3. ß-ENDORPHIN- UND ACTH-PLASMAKONZENTRATIONEN INTRA ET POST PARTUM

War auf der einen Seite bekannt, daß sich während der Wehenstadien ein deutlicher ACTH-Anstieg im Plasma bemerkbar macht, und andrerseits nachgewiesen, daß ACTH in bestimmten Situationen in äquimolarer Menge gemeinsam mit ß-Endorphin von der Hypophyse freigesetzt wird, so interessierte nun, inwieweit sich auch im Geburtsgeschehen simultane Plasmaspiegelanhebung beider Hormone zeigen würde. Dazu ermittelten CSONTOS et al. (1979) ACTH- und ß-Endorphinwerte (RIA) im Plasma von 22 Frauen mit unkomplizierten Schwangerschaften (38. - 42. Woche) — die zur Unterstützung der Wehentätigkeit 6 I.E. Orasthin^{R} (Oxytozin) in 5,7 %iger Glukose-Infusionslösung erhielten (Tropfrate 30 ml/h) — während des ersten und zweiten Wehenstadiums (jeweils in aktiver Phase und Wehenpause), sowie unmittelbar und einen Tag nach spontaner Entbindung, und parallel in Nabelarterien- und -venenblut der Neugeborenen. Die Gewinnung der Blutproben erfolgte jeweils zwischen 8.00 und 14.00 Uhr, wobei nicht gravide, junge Frauen die Kontrolldaten lieferten.

Die Resultate enthüllen, neben merklich angehobenen ACTH-, signifikant erhöhte ß-Endorphinkonzentrationen im mütterlichen und kindlichen — ohne ablesbare Differenz zwischen arteriellem und venösem — Blut gegenüber Kontrollwerten (Abb. 46 und 47). Bei deutlichem Plasmaanstieg beider Peptide vom ersten zum zweiten, deutet sich für ß-Endorphin

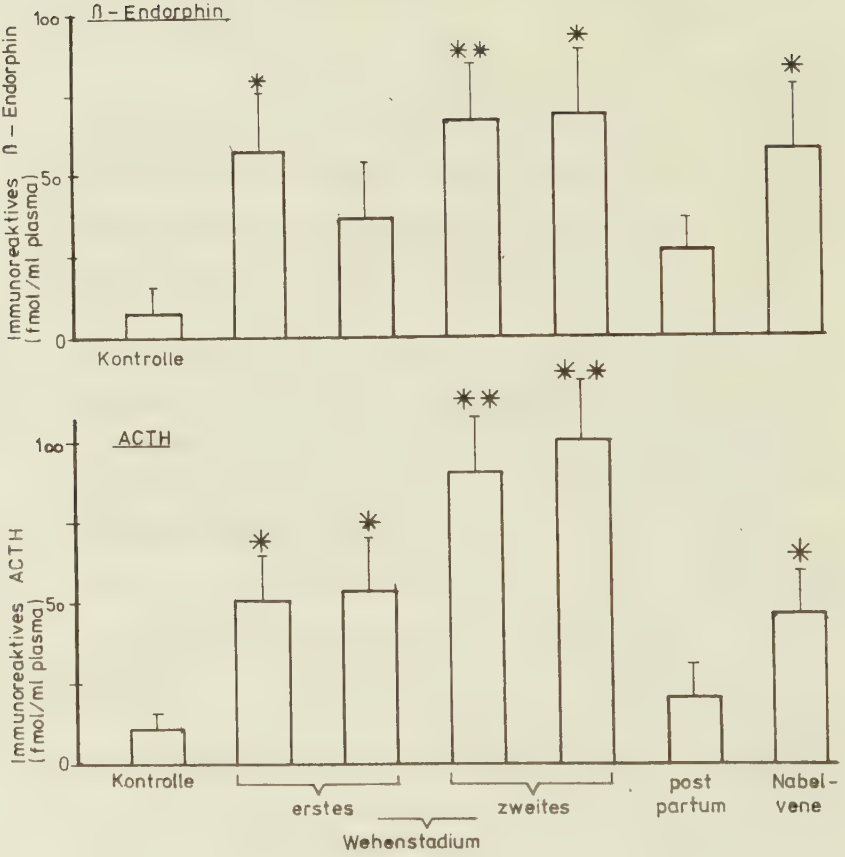


Abb. 46: Plasmakonzentrationen von immunoreaktivem ß-Endorphin und ACTH junger, nicht schwangerer Frauen (Kontrolle; n = 8) im Vergleich zu den Plasmaspiegeln von Frauen im 1. und 2. Wehenstadium (jeweils in aktiver Wehen- und -intervallphase), sowie am Tag post partum und im Nabelvenenblut (n = 11)

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ im Vergleich zur Kontrolle

(nach CSONTOS et al., 1979)

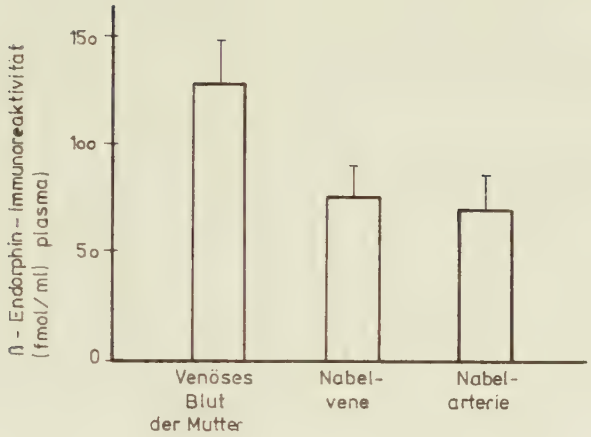


Abb. 47: ß-Endorphin-Immunoreaktivität im venösen Blut von 11 Frauen unmittelbar post partum, wie im arteriellen und venösen Blut ihrer Neugeborenen.
(nach CSONTOS et al., 1979)

im ersten Wehenstadium ein — allerdings nicht signifikanter — Abfall von aktiver Wehen- zu -intervallphase an (Abb. 46). Während die unmittelbar post partum gemessenen ß-Endorphinwerte (Abb. 47) die im zweiten Wehenstadium registrierbaren bei weitem überragen, läßt sich bereits einen Tag nach der Geburt keine signifikante Abweichung mehr vom Basalspiegel notieren (Abb. 46).

Nachdem das zur ß-Endorphinanalyse verwendete Antiserum identische Avidität gegenüber ß-Lipotropin aufwies, wurde eine anschließende Trennung der immunoreaktiven Komponenten mittels Gelfiltration (Sephadex-G-50) vorgenommen. Dabei

war zu erkennen, daß ß-Lipotropin — außer im mütterlichen Plasma während der Wehenphasen — das dominierende Peptid darzustellen scheint, als das es sich auch in Hypophysenextrakten (Pars distalis und intermedia/nervosa) eines 22 Wochen alten, menschlichen Fetus zeigt (CSONTOS et al., 1979). Überraschung löst das übereinstimmende ß-Endorphin /ß-Lipotropin-Verhältnis im fetalen Hypophysenvorder- und zwischen-/-hinterlappen aus, findet sich doch bei der Ratte in der Adenohypophyse deutliche Bevorzugung von ß-Lipotropin/ACTH, in der Pars intermedia/nervosa hingegen fast ausschließlich ß-Endorphin /α-MSH. Als Quelle für die zwar ebenfalls erhöhten, aber weit unter den mütterlichen Werten liegenden ß-Endorphin-Plasmakonzentrationen der Neugeborenen ziehen CSONTOS et al. (1979) — angesichts ihrer Untersuchungsbefunde am Fetus, wie des offensichtlichen Unvermögens von Substanzen mit einem Molekulargewicht über 600 (ACTH 4500; ß-Endorphin 3500; ß-Lipotropin ca. 100 000), durch die Plazentarschranke zu diffundieren — die fetale Hypophyse in Betracht, ohne allerdings plazentare Sekretion von ß-Endorphin/ß-Lipotropin auszuschließen.

Neben teilweiser Unterstützung für die in Stress-Situationen beobachtete, simultane ACTH/ß-Endorphin-Ausschüttung (GUILLEMIN et al., 1977; ROSSIER et al., 1979a; 1980a; AKIL et al., 1979), lassen die Untersuchungen von CSONTOS et al. (1979) eine — wenngleich nicht signifikante — Abweichung im Sekretionsmuster beider Peptide während

der ersten Wehenphase verzeichnen, deren Ursache augenblicklich unklar ist. Möglicherweise steht sie in Zusammenhang mit der gegenüber ACTH rascheren Metabolisierung von ß-Lipotropin/ß-Endorphin.

Für die Bedeutung der erhöhten ß-Endorphingehalte während der Geburt finden die Autoren vorab keine Erklärung, zumal sich die Blutspiegel sehr weit unter denen bewegen, die zur Erzielung eines geringen, analgetischen Effektes nach intravenöser Applikation erforderlich wären.

12.4. PLAZENTARE OPIOIDE

Neue Aspekte hinsichtlich einer Beteiligung opioiderger Systeme an den im Rahmen von Gravidität und Geburt ablaufenden, endogenen Vorgängen wirft die Entdeckung von immunoreaktivem ß-Lipotropin und ß-Endorphin in der menschlichen Plazenta durch NAKAI et al. (1978) auf. Damit reihen sich Opioidpeptide möglicherweise in den Kreis der Substanzen ein, die — hypophysenhormonartig wirksam — im "Ausnahmezustand Gravidität" vorübergehend von extrahypophysärem Gewebe produziert werden, wie etwa HCG, PMSG, Chorionthyrotropin, Chorionsomatomammotropin und Chorioncorticotropin.

Gelchromatographie enthüllte, daß die totale ß-Endorphinimmunoreaktivität in der Plazenta zwei Fraktionen mit Elutionspositionen vergleichbar jenen von ß-Lipotropin und ß-Endorphin, und darüberhinaus eine Fraktion mit höherem Molekulargewicht enthält, die alle drei parallel zur ß-Endorphin-RIA-Standardkurve verlaufen (NAKAI et al., 1978).

Einen Schritt weiter gingen HOUCK et al. (1980), die neben Radioimmuno- auch Radiorezeptorassaystudien durchführten, in welchen sie die Verdrängung von $[^3H]$-Naloxon von seinen Bindungsstellen im Gehirn durch Endorphinmoleküle aus Säureextrakten menschlicher Plazenta testeten. Mittels chromatographischer Analyse bei Verwendung verschiedener Daltonfilter gelang es ihnen, die Molekülgröße zu schätzen, die bei der einen Hälfte des ß-endorphinimmuno-

reaktiven Materials zwischen 25 000 und 50 000, bei der anderen um 4500 bis 4800 Dalton liegt. Sie folgern daraus, daß die Plazenta offenbar makromolekulare Vorstufen enthält, von welchen ß-endorphinähnliche Peptide entlassen werden, die um rund 12 Aminosäuren länger sind, als das originäre Hypophysenhormon.

In Zweifel gezogen wurden die Ergebnisse von NAKAI et al. (1978) durch JULLIARD et al. (1980), die ein hochmolekulares Protein mit ß-Endorphin- und ACTH-Immunoreaktivität aus menschlicher Plazenta isolierten, das sie nach verschiedenen Reinigungsschritten, einschließlich Immunoadsorption mit ß-Endorphin-Antiserum, als Bestandteil des humanen Immunoglobulin IgG_1 identifizierten. Diese Entdeckung veranlaßt sie, Vorsicht anzuraten "... in accepting immunological competence as a sole criterion of the chemical identity of a ligand ..."

Nichtsdestotrotz dürften die Radiorezeptorstudien von HOUCK (HOUCK et al., 1980) das Vorhandensein von Peptiden mit Opiatwirkung in der Plazenta bestätigen.

12.5. OPIOIDE IN AMNIONFLÜSSIGKEIT, MATERNALEM UND FETALEM BLUT

Ein erst kürzlich in Gehirn, Cerebrospinalflüssigkeit und Blut von Ratten entdecktes, offenbar sehr stabiles, mit Leu-Enkephalin um dessen Bindungsstellen konkurrierendes Opioid, genannt "humorales (H-) Endorphin" (SARNE et al., 1981), prüften GRANAT et al. (1980) auf etwaige Anwesenheit in Amnionflüssigkeit, maternalem und fetalem Blut zu verschiedenen Graviditätsstadien beim Menschen. Es gelang ihnen, wie zuvor SARNE et al. (1981), unter Verwendung von Leu-Enkephalin-Antikörpern eine immunoreaktive Substanz nachzuweisen, die — bei von ß-Endorphin wie Enkephalinen abweichendem Elutionsprofil — ein ähnliches Muster wie H-Endorphin und eine Molekülgröße von 1000-1400 Dalton aufweist. Aus Abbildung 48 lassen sich die ermittelten Konzentrationen des mutmaßlichen H-Endorphin bei ausgetragenen Schwangerschaften (38.-42. Woche) und bei Aborten im 2. Trimester (16.-20. Woche) bzw. Frühgeburten vergleichend ablesen. Die Gehalte in der Amnionflüssigkeit demonstrieren deutlichen Abfall gegen Ende der Gravidität, während sich in mütterlichem und fetalem Blut eine gleichgeartete Differenz zwischen beiden Testgruppen lediglich andeutet, ohne (bei n = 4!) statistische Signifikanz zu erlangen.

Aus ihren Resultaten leiten GRANAT et al. (1980) ab, daß es sich bei dem nachgewiesenen Peptid um ein dem H-Endorphin ähnliches oder mit diesem identisches Opioid handelt.

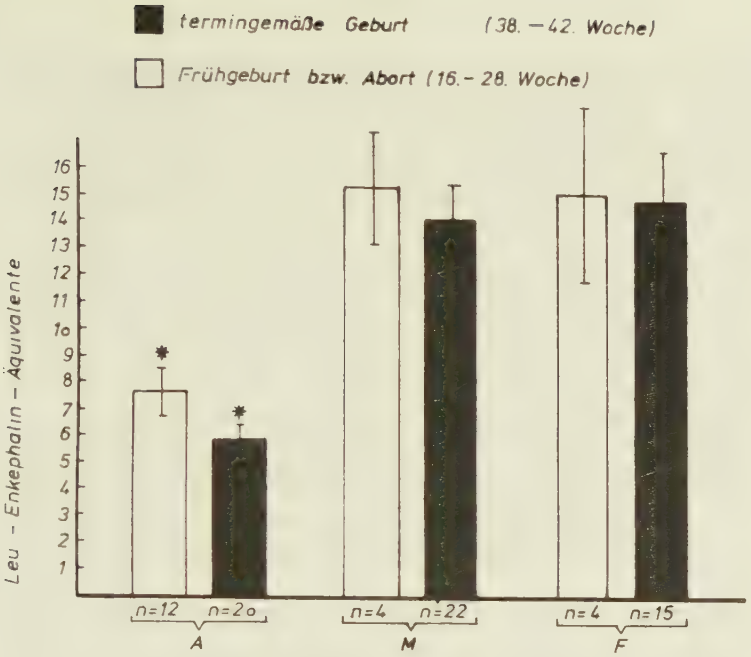


Abb. 48: Konzentration von humoralem (H-)Endorphin in Amnionflüssigkeit (A), mütterlichem (M) und fetalem (F) Blut beim Menschen zu verschiedenen Graviditätsstadien *$p < 0{,}01$
(nach Angaben von GRANAT et al., 1980)

Den Hinweis auf fetalen Ursprung des in der Amnionflüssigkeit gefundenen H-Endorphin entnehmen sie aus der Tatsache, daß die Blutkonzentrationen beim Fetus wie bei der Mutter weit darüber liegen, und deuten den gegen Ende der Gravidität um ca. 30 % abfallenden Spiegel im Sinne einer zunehmenden Reifung der für die Metabolisierung verantwortlichen, fetalen Enzymsysteme.

12.6. MÖGLICHE BEDEUTUNG ENDOGENER OPIATE IM RAHMEN DER GEBURT

Faßt man die im Rahmen von Gravidität und Geburt gewonnenen Resultate kurz zusammen, so ergibt sich folgendes Bild:

1. Im Ablauf der Gravidität scheint es zu schrittweiser Aktivierung eines opioidergen Systems zu kommen, das, zur Erhöhung der Schmerzschwelle führend, den Höhepunkt seiner Wirksamkeit zum Geburtstermin erreicht.

2. Untersuchungen, in welchen die analgetische Potenz verschiedener Opioide getestet wurde, zeigen, daß ß-Endorphin wie Enkephaline nur nach Verabfolgung in den Liquorraum in der Lage sind, die hervorragende, analgetische Wirksamkeit von Morphin nachzuvollziehen. Dabei mögen mangelnde Penetrierbarkeit der Blut-Hirnschranke bzw. extrem schnelle Inaktivierung in vivo für die ausbleibenden Effekte dieser Peptide nach systemischer Applikation verantwortlich zeichnen.

3. Der während der Geburt registrierte Anstieg der ß-Endorphinkonzentration im Plasma, der teils — wie in experimentellen Stress-Situationen beobachtet — kovariat mit der ACTH-Spiegelanhebung, teils abweichend davon verläuft und sein Maximum unmittelbar post partum erlangt, dürfte demnach unabhängig von den mit der Nociception verknüpften, opioidergen Prinzipien zu sehen sein, ohne daß augenblicklich sichere Hinweise auf dessen Bedeutung gegeben wären.

4. Auch die physiologischen Funktionen der aus Plazentagewebe isolierten, ß-endorphinimmunoreaktiven Opioide, wie der mit Leu-Enkephalin-Antiserum kreuzreagierenden Peptide in Amnionflüssigkeit, maternalem und fetalem Blut, die bereits Wochen ante partum hohe Werte aufweisen und mit Annäherung an den Geburtstermin abfallende Tendenz demonstrieren, sind bislang ungeklärt.

Diese Resultate geben also eine ganze Reihe von Rätseln auf, wobei vor allem die Frage nach den Angriffspunkten der in der Peripherie anzutreffenden Opioide im Mittelpunkt steht.
Angesichts der Existenz verschiedenartiger, opioiderger Prinzipien im Organismus stellt sich grundsätzlich einer tonischen Kontrollfunktion endogener Opiate für bestimmte Bereiche die Möglichkeit eines situationsabhängig modulierten Aktivierungsgrades gegenüber. Nachdem sich gezeigt hatte, daß endogene Opiate als wesentlicher Faktor des neuroendokrinen Systems bei der Steuerung hypophysärer Hormonfreisetzung anzusehen sind, könnte im "Ausnahmezustand Gravidität" opioiderge Einflußnahme auf die plazentare Sekretion "hypophysenartiger" Hormone in Betracht gezogen werden. Hierbei wäre etwa eine Interaktion mit LHRH denkbar, für das sich Hinweise auf außerhalb von Gehirn und Hypophyse gelegene Angriffspunkte mehren (REDDY et al., 1980; BEX et al., 1981).

Begibt man sich,angeleitet durch die Hinweise in zahllosen Veröffentlichungen, wonach Opioidpeptide die Aktion von Opiaten, oder besser, Opiate die Effekte von endogenen Liganden imitieren, auf die Suche nach Morphinwirkungen am Uterus, dann findet man darüber im Gegensatz zu anderen, glattmuskulären Organen, wie Magen-Darm-Trakt oder Harnblase, auf die Morphin altbekannt erhebliche Auswirkungen —unter anderem Beeinflussung von Tonus, Motilität, Resorption und Sekretion — demonstriert, recht spärliche Auskünfte. So nimmt es nicht wunder, daß sich gerade in den letzten zwei Jahren die Forschung auf dem gastrointestinalwissenschaftlichen Sektor intensiviert und bereits für eine Reihe von Effekten exogener äquivalente Funktionen endogener Opiate aufgedeckt hat (MITZNEGG et al., 1977; IPP et al., 1978; SCHULTZBERG et al., 1978b; KONTUREK et al., 1978; BODYCOTE et al., 1979; SHAW, 1979; WILLIAMS et al., 1979; BLOOM et al., 1979; GILLAN et al., 1979; 1980; LUNDBERG et al., 1979b; McCLOY et al., 1979; MORLEY, 1980; NIJKAMP et al., 1980; PASCAUD et al., 1980; ROZÉ et al., 1980; UDDMAN et al., 1980; WEISBRODT et al., 1980; WONG et al., 1980; CELOTTI et al., 1980; FURUKAWA et al., 1980; McCALLUM et al., 1980; HUGHES, 1981). Dagegen stützen sich die Angaben einer Opioideinflußnahme auf die Gebärmutter vor allem auf Daten von Drogenabhängigen, wo Störungen im Geburtsablauf allgemein, wie erhöhte Zahlen abortierter oder tot geborener Feten zu verzeichnen sind. Die Applikation hoher Morphindosen soll bei Mensch und Tieren zur

Verlängerung der Wehenphasen Anlaß geben, die Geburtswegpassage der Frucht deutlich verzögern, und so zu vermehrter, pre- bzw. neonataler Sterblichkeit führen, wobei Opiatangriffspunkt und -wirkungsmechanismus unklar sind. Allerdings dürfte die gesteigerte Anzahl tot geborener Früchte teilweise auf Beeinträchtigung des fetalen Atemzentrums oder kardiovaskulären Effekten basieren, zumal Morphin Plazentar- und Bluthirnschranke mühelos zu penetrieren vermag.

Die Erkenntnis einer möglichen, physiologischen Beteiligung endogener Opiate an der Kontrolle der Oxytozinsekretion läßt jedoch bei den Ausführungen von JAFFE (JAFFE et al., 1975) aufhorchen, der schreibt: "...the effects of therapeutic doses of morphin in women also suggest that labor may be somewhat prolonged. The mechanism involved is not clear, for the normally contracting human uterus at term does not appear to be significantly affected by analgesic doses of morphin. However, it has been noted that, if the uterus is made hyperactive by oxytocics, morphine tends to restore tone, frequency, and amplitude of contractions to normal."

Demnach ließe sich die Hypothese aufstellen, daß endogene Opiate, deren Aktivierung bzw. vermehrte Freisetzung durch Stress als bestens gesichert angesehen werden kann, im Rahmen der Geburt nicht nur als schmerzschwellenerhöhende Substanzen (GINTZLER, 1980) agieren, sondern darüberhi-

naus in einer Art Rückkopplungseffekt — eventuell bei Erreichen eines gewissen Blutspiegels, der wiederum in Abhängigkeit von Grad und Dauer der Schmerz- bzw. Stresseinwirkung stehen mag — zu einer Hemmung der Oxytozinsekretion, und damit einer Tonusabnahme des Uterus veranlaßten. Auf diese Weise verfügte der Organismus im Zusammenhang mit der Geburt über einen indirekten Schutzmechanismus gegen ins Unerträgliche gesteigerte Schmerzen.

Der Möglichkeit einer sofortigen Unterbrechung der Wehentätigkeit durch Stimulation der $ß_2$-Adrenozeptoren im Uterus bzw. Inhibition der myometrialen Oxytozinansprechbarkeit, stünde also ein System gegenüber, das in Beantwortung anhaltender Schmerz- und Stresseinwirkung längerfristig, d.h. über Reduktion oder Blockierung der Oxytozinfreisetzung zu einer Wehenhemmung führte.
Ausgehend von der Hypothese eines opioidergen Rückkopplungseffektes auf die Oxytozinsekretion ließen sich eine ganze Reihe von Störungen im Geburtsablauf dahingehend erklären. So könnte das Auftreten von sekundärer Wehenschwäche auf einer verstärkten Hemmwirkung endogener Opiate gegenüber der Oxytozinentladung basieren, die sich in Abhängigkeit von Grad und Dauer der Schmerzempfindung einstellte. Entsprechend mag die etwa beim Rind im Anschluß an Schwergeburten häufig zu vermerkende Retentio secundinarum einen ursächlichen Zusammenhang mit derartigen Regelprinzipien vermuten lassen.

Welchen der zahlreichen, bisher entdeckten, endogenen Peptide mit Opiatpotenzen in diesem Rahmen Bedeutung zukommen könnte, läßt sich derzeit nicht sagen. Doch böten sich beispielsweise das in der Neurohypophyse anzutreffende Dynorphin (1-13) (GOLDSTEIN et al., 1979; HUGHES, 1981), humorales (H-) Endorphin (GRANAT et al., 1980; SARNE et al., 1981), hypophysäres ß-Endorphin, adrenale Opioide oder die aus Plazentagewebe isolierten, Opiateigenschaften aufweisenden Peptide (NAKAI et al., 1978; EDWARDS, 1980; HOUCK et al., 1980) als "hypothetische Kandidaten" an.

Mit dem sehr potenten Dynorphin oder auch mit H-Endorphin, das in Amnionflüssigkeit und Blut gravider Frauen nachgewiesen werden konnte (GRANAT et al., 1980), hätte man Opioide an der Hand, welche offenbar all die Bedingungen erfüllen, die für neuroendokrine, wie eventuell schmerzregulatorische Funktionen im Organismus plädieren: Bei hoher Potenz relativ große Stabilität im Vergleich zu anderen Opioidpeptiden, geringes Molekulargewicht, mutmaßliche Fähigkeit, die Bluthirnschranke zu penetrieren (?). Außerdem erscheinen Berichte interessant, die diesen Peptiden neben Kreuzreaktion mit Antikörpern gegen Leu-Enkephalin auch Konkurrenz um dessen Bindungsstellen nachsagen, zumal ROSSIER et al. (1979b, 1980b) durch ihre Untersuchungen einen deutlichen Hinweis auf mögliche, funktionelle Verknüpfungen makrozellulärer und leu-enkephalinerger, neurohypophysärer Nervenfasern erbracht hatten.

Eine prinzipiell mögliche Beteiligung des ß-endorphinergen Hypophysenzwischenlappensystems an der Oxytozinkontrolle intra partum läßt sich aus den Versuchen von BAIZMAN et al. (1979) ableiten, die bei Ratten nach einstündigem Säugen, also im Gefolge vermehrter Oxytozinfreisetzung, signifikante Anhebung von Pars intermedia-ß-Endorphin, jedoch keine Änderung des adenohypophysären ß-Endorphingehaltes registriert hatten (Vgl. Seite 291). In experimentellen Stress-Situationen wiederum wird gleichzeitige Ausschüttung von ACTH und ß-Endorphin, begleitet von deutlichem ß-Endorphinsturz im Hypophysenvorderlappen vermerkt, wohingegen sich in der Pars intermedia eher die Tendenz einer Erhöhung zeigt (GUILLEMIN et al., 1977; BAIZMAN et al., 1979). Einer intra partum unterschiedlichen Stimulation von ACTH und ß-Endorphin könnte der bei Frauen im 1. Wehenstadium verzeichnete Wechsel zwischen kovariatem und abweichendem Verlauf im Plasmagehalt beider Peptide (CSONTOS et al., 1979) Rechnung tragen.

Aus diesen Beobachtungen ist einmal die Möglichkeit einer unter gewissen Bedingungen differenzierten Regulation von ACTH- und ß-Endorphinfreisetzung zu entnehmen, die darüberhinaus durch Immunoperoxidasestudien unterstützt wird, welche den histologischen Nachweis für eine Dissoziation zwischen ACTH- und ß-endorphinpositiven Zellen in der Hypophyse erbringen (DEFTOS et al., 1980). Zum anderen deutet sich die Wahrscheinlichkeit einer getrennten Steuerung der ß-Endorphinentlassung von Adenohypophyse bzw. Pars intermedia an.

Entsprechend zeigen in-vitro-Versuche an inkubierten Hypophysen (SIMANTOV, 1978; RAYMOND et al., 1979; HERZ et al., 1980; VERMES et al., 1980), daß die ß-Endorphinfreisetzung von Hypophysenvorder- bzw.-zwischenlappen unterschiedlichen Stimuli gehorcht: Release-Induktion durch K^+ (und Ca^{++}), CRF (Corticotropin-Releasing-Faktor), Lysin-Vasopressin und Noradrenalin (α-Adrenozeptoren) ausschließlich von der Adenohypophyse, dagegen nur in der Pars intermedia Hemmung der Basalsekretion durch K^+ und Dopamin. Während die K^+-Wirkung auf die ß-Endorphinausschüttung von Hypophysenvorderlappenzellen unbeeinflußt durch Dopaminrezeptorblocker bleibt, vermögen diese, die K^+-verursachte Inhibition der Sekretion im Hypophysenzwischenlappen aufzuheben.

Diese Beobachtung führt zu der Annahme, daß hohe K^+-Gehalte über Stimulation der Dopaminfreisetzung seitens der, vom Hypothalamus zur Pars intermedia verlaufenden, dopaminergen Nervenbahnen die Abgabe von ß-Endorphin verhindern (HERZ et al., 1980; VERMES et al., 1980). So gesehen könnte das dopaminerge Hypophysenzwischenlappensystem den adäquaten Kontrollmechanismus für die von dort erfolgende ß-Endorphinentladung darstellen. Das wiederum bedeutete —Pars intermedia-ß-Endorphin als Oxytozininhibitor angenommen —, daß zum Zeitpunkt vermehrter Oxytozinfreisetzung erhöhte, dagegen im Falle einer Hemmung der Oxytozinabgabe reduzierte dopaminerge Aktivität zu verzeichnen sein müßte.

Wenn man diese Hypothese weiterverfolgt, könnte man angesichts der bekannten, opioidinduzierten Reduktion des Dopaminumsatzes in der Eminentia mediana (FERLAND et al., 1977; DEYO et al., 1979; VAN VUGT et al., 1979; GEORGE et al., 1980) postulieren, daß im Gefolge eines schmerz- und/oder stressinduzierten Opioidanstiegs im Plasma während der Geburt ein Rückkopplungseffekt auf die, für die Versorgung der Pars intermedia zuständigen, dopaminergen Neurone statthat, der erhöhte ß-Endorphinfreisetzung vom Hypophysenzwischenlappen und in der Folge Depression der Oxytozinentladung nach sich zieht.

13. ZUSAMMENFASSUNG

Mit dieser Arbeit wurde der Versuch unternommen, die Ergebnisse jüngster Grundlagenforschung auf dem Gebiet der endogenen Opiate zusammenzufassen, die die Bedeutung dieser Substanzen im Rahmen des Fortpflanzungsgeschehens demonstrieren.

Ausgehend von Pilotversuchen, die auf opioidinduzierte Beeinflussung hypophysärer Hormonfreisetzung — Hemmung der basalen Gonadotropinsekretion einer-, und Stimulation der Prolactinausschüttung andrerseits — hinweisen, wurden mögliche Angriffspunkte und Mechanismen aufgezeigt, über die endogene Opiate diese Wirkungen entfalten.

Während sich im Hinblick auf die Gonadotropinkontrolle eine Einflußnahme auf hypothalamischer oder höherer Ebene herauskristallisiert, scheinen die Effekte auf die Prolactinregulation auf hypophysärem wie hypothalamischem Level abzulaufen.

Durch Applikation des Opiatantagonisten Naloxon induzierte Hemmung der im Gefolge der verschiedensten Stimuli stattfindenden Prolactinausschüttung enthüllt die Beteiligung opioiderger Systeme an der Ausprägung dieser Phänomene.

Entsprechend deutet sich eine in Stress-Situationen neben ACTH- und Prolactin-Freisetzung erfolgende Aktivierung endogener Opiate an.

Versuche an männlichen und weiblichen, gonadektomierten Tieren weisen auf eine Opioidbeteiligung an der Vermittlung

der Steroid-Feedbackmechanismen hin, die sich auch aus Experimenten an prepubertalen Ratten beiderlei Geschlechts entnehmen läßt. Neben einer Mitwirkung an den pubertätseinleitenden endogenen Vorgängen, scheinen Opioide in alterungsbedingte Veränderungen im Bereich der Hypothalamus-Hypophysen-Gonadenachse einbezogen zu sein. Wechselnde, hypothalamische Met-Enkephalinkonzentrationen, opiatverursachte Inhibition von preovulatorischem Gonadotropin- und Prolactin-Peak und naloxoninduzierte Änderung des zyklischen LH-Spiegelverlaufsmusters unterstreichen die Teilnahme opioiderger Mechanismen am Zyklusgeschehen.

Vielfältig präsentiert sich darüberhinaus modulierendes Eingreifen von Opioiden in die neurohypophysäre Hormonfreisetzung, wie in die im Ablauf von Gravidität und Geburt statthabenden Ereignisse, wobei neben opioidinduzierter Erhöhung der Schmerzschwelle eine Beeinflussung der Oxytozinsekretion durch diese Substanzen in Betracht zu ziehen ist.

13. SUMMARY

The present work tried to review recent results obtained from numerous experiments concerned with the role of endogenous opioid peptides in the control of reproductive functions.

In that endogenous opioid peptides inhibit basal gonadotropin secretion while they stimulate the release of prolactin, possible mechanisms were described by which they may influence pituitary hormone secretion. Current evidence indicates that the opioids act via the hypothalamus to regulate gonadotropin and prolactin release, whereas they may stimulate prolactin by a direct action on the pituitary level too.

Naloxone induced inhibition of prolactin secretion under various physiological conditions supposes the involvement of endogenous opioids in basal and stimulus coupled prolactin release, as occurs during stress.

Experiments in gonadectomized as well as in prepubertal animals of both sexes indicate participation of endogenous opioid peptides in mediating steroid induced feedback actions. On the one hand opioids may take part in the chain of events leading to puberty, on the other hand they seem to be involved in ageing induced changes in the hypothalamo-pituitary-gonadal axis.

Fluctuations in hypothalamic met-enkephalin content, naloxone induced changes in the cyclic LH-pattern and opioid inhi-

bition of preovulatory gonadotropin and prolactin peak provide evidence that opioids may have a physiological role in regulating hypothalamo-hypophyseal function during the estrous and menstrual cycle.

Opioids apparently influence posterior pituitary hormone release and moreover take part in regulating pain threshold during pregnancy and parturition, probably also by modulating the amount of oxytocin available to induce uterine contractions.

14. LITERATURVERZEICHNIS

AKIL, H., S.J. WATSON, R.M. LEVY, J.D. BARCHAS (1978): ß-Endorphin and other 31 K fragments: pituitary and brain systems
In: Characteristics and Function of Opioids, 123-135, ed. by Van Ree and Terenius, Elsevier/North Holland Biomedical Press

AKIL, H., S.J. WATSON, J.D. BARCHAS, C.H. LI (1979): ß-Endorphin immunoreactivity in rat and human blood: radioimmunoassay, comparative levels and physiological alterations
Live Sci. 24, 1659-1666

AMIR, S., Z.W. BROWN, Z. AMIT (1980): The role of endorphins in stress: evidence and speculations
Neurosci. Biobehav. Rev. 4, 77-86

ARBILLA, S., S.Z. LANGER (1978): Morphine and ß-endorphin inhibit release of noradrenaline from cerebral cortex but not of dopamine from rat striatum
Nature 271, 559-561

BAIZMAN, E.R., B.M. COX (1978): Endorphin in rat pituitary glands: its distribution within the gland, and age related changes in gland content in male and female rats
Life Sci. 22, 519-526

BAIZMAN, E.R., B.M. COX, O.H. OSMAN, A. GOLDSTEIN (1979): Experimental alterations of endorphin levels in rat pituitary
Neuroendocrinol. 28, 402-424

BARKER, J.L., D.L. GRUOL, L.-Y. M. HUANG, J.F. MAcDONALD, T.G. SMITH jr. (1980): Peptide receptor functions on cultured spinal neurons
In: Neural Peptides and Neuronal Communication, 409-423, ed. by E. Costa u. M. Trabucchi, Raven Press, New York

BARRACLOUGH, C.A., C.H. SAWYER (1955): Inhibition of the release of pituitary ovulatory hormones in the rat by morphine
Endocrinol. 57, 329-337

BARRY, J. (1976): Characterization and topography of LH-RH neurons in the human brain
Neurosci. Letters 3, 287-291

BEAUMONT, A., J. HUGHES (1979): Biology of opioid peptides
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 19, 245-267

BÉGEOT, M., M.P. DUBOIS, P.M. DUBOIS, M.M. JOUVET (1978): Localisation par immunofluorescence de l'hormone ß-lipotrope (ß-LPH) et de la ß-endorphine dans l'antéhypophyse de foetus humains normaux et anencéphales
C.R.Acad. Sc. Paris 286, (D), 213-216

BELLA, D. DELLA, A. CARENZI, V. FRIGENI, V. SANTINI (1979): Effect of carboxypeptidase inhibition on the in vivo and in vitro pharmacological properties of morphine and enkephalins
Neuropharmacol. 18, 719-721

BELLA, F.S. LA (1975): Opiate-specific displacement of steroid hormones from microsomes
Life Sci. 16, 1783-1784

BERGLAND, R.M., R.B. PAGE (1979): Pituitary-brain vascular relations: a new paradigm
Science 204, 18-24

BERTI, F., F. BRUNO, C. OMINI, G. RACAGNI (1978): Genotype dependent response of morphine and methionine-enkephalin on the electrically induced contractions of the mouse vas deferens
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 305, 5-8

BEX, F.J., A. CORBIN (1981): Luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) and LH-RH agonist termination of pregnancy in hypophysectomized rats: extrapituitary site of action
Endocrinol. 108, 273-280

BIGGIO, G., M. CASU, M.G. CORDA, C. DIBELLO, G.L. GESSA (1978a): Stimulation of dopamine synthesis in caudate nucleus by intrastriatal enkephalins and antagonism by naloxone
Science 200, 552-554

BIGGIO, G., M.G. CORDA, M. CASU, G.L. GESSA (1978b): Striatocerebellar pathway controlling cyclic GMP content in the cerebellum: role of dopamine, GABA and enkephalins
Adv. Biochem. Psychopharmacol. 18, 227-244

BLÄSIG, J., U. BÄUERLE, A. HERZ (1979): Endorphin-induced hyperthermia: characterization of the exogenously and endogenously induced effects
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 309, 137-143

BLANK, M.S., A.E. PANERAI, H.G. FRIESEN (1979): Opioid peptides modulate luteinizing hormone secretion during sexual maturation
Science 203, 1129-1131

BLOOM, F., E. BATTENBERG, J. ROSSIER, N. LING, J. LEPPALUOTO, T.M. VARGO, R. GUILLEMIN (1977): Endorphins are located in the intermediate and anterior lobes of the pituitary gland, not in the neurohypophysis
Life Sci. 20, 43-48

BLOOM, S.R., J.M. POLAK (1979): Neuropeptides in the gut and other peripheral tissues
In: Brain Peptides: A new Endocrinology, III, 103-117, ed. by A.M. Gotto, E.J. Peck and A.E. Boyd, Elsevier/North Holland Biomedical Press

BODYCOTE, I.J., G.B. CHESHER (1979): Naloxone-induced contracture of ileum from stressed guinea pigs
Europ. J. Pharmacol. 57, 259-261

BOUREAU, F., J.C. WILLER, C. DAUTHIER (1978): Study of naloxone in normal awake man: effects on spinal reflexes
Neuropharmacol. 17, 565-568

BRANDT, M., R.J. GULLIS, K. FISCHER, C. BUCHEN, B. HAMPRECHT, L. MORÖDER, E. WÜNSCH (1976): Enkephalin regulates the levels of cyclic nucleotides in neuroblastoma x glioma hybrid cells
Nature 262, 311-313

BRANTL, V., H. TESCHEMACHER (1979): A material with opioid activity in bovine milk and milk products
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 306, 301-304

BRITTON, D.R., R. FERTEL, D.H. COY, A.J. KASTIN (1978): Effect of enkephalin and endorphin analogs on receptors in the mouse vas deferens
Biochem. Pharmacol. 27, 2275-2277

BROWNSTEIN, M.J. (1980): Opioid peptides: search for the precursors
Nature 287, 678-679

BROWNSTEIN, M.J., J.T. RUSSEL, H. GAINER (1980): Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones
Science 207, 373-378

BRUNI, J.F., D. VAN VUGT, S. MARSHALL, J. MEITES (1977): Effects of naloxone, morphine and methionine enkephalin on serum prolactin, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, thyroid stimulating hormone and growth hormone
Life Sci. 21, 461-466

BRUNI, J.F., W.B. WATKINS, S.S.C. YEN (1979): ß-endorphin in the human pancreas
J.Clin. Endocrin. Metabol. 49, 649-651

BUTCHER, R.L., W.E. COLLINS, N.W. FUGO (1974): Plasma concentrations of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 ß throughout the 4-day estrus cycle of the rat
Endocrinol. 94, 1704-1708

CARENZI, A., I. BIASINI, V. FRIGENI, D. DELLA BELLA (1980): On the enzymatic degradation of enkephalins: pharmacological implications
In: Neural Peptides and Neuronal Communication, 237-246, ed. by E. Costa and M. Trabucchi, Raven Press, New York

CARILLO, A.J. (1980): The medial basal hypothalamus and luteinizing hormone release in the rat: Where are the LH-RH neurons responsible for tonic gonadotropin secretion?
Life Sci. 27, 179-183

CARILLO, A.J., N. HAGINO, G. SETALO (1980): Plasma LH levels following electrochemical stimulation of the deafferented medial basal hypothalamus
Acta Endocrinol. 94, 11-17

CATLIN, D.H., R. GEORGE, C.H. LI (1978): ß-endorphin: pharmacologic and behavioral activity in cats after low intravenous doses
Life Sci. 23, 2147-2154

CELOTTI, F., J.M.S. FARINA, M. MOTTA, L. MARTINI (1980): Effect of met-enkephalin on portal insulin and glucose in the rat
Horm. Metab. Res. 12, 125-126

CHANG K.- J., B.R. COOPER, E. HAZUM, P. CUATRECASAS (1979): Multiple opiate receptors: different regional distribution in the brain and differential binding of opiates and opioid peptides
Molecular Pharmacol. 16, 91-104

CHENG, R., B. POMERANZ, G. YÜ (1979a): Dexamethasone partially reduces and 2% saline-treatment abolished electro-acupuncture analgesia: these findings implicate pituitary endorphins
Life Sci. 24, 1481-1486

CHENG, R., B. POMERANZ (1979b): Electroacupuncture analgesia could be mediated by at least two pain-relieving mechanisms: endorphin and non-endorphin systems
Life Sci. 25, 1957-1962

CHENG, R., L. McKIBBIN, B. POMERANZ, B. ROY (1980): Das Verhalten des Blutplasmacortisolspiegels von Pferden nach Akupunktur und Placeboakupunktur
Der Akupunkturarzt/Aurikulotherapeut 2, 48-49

CHEUNG, A.L., A. GOLDSTEIN (1976): Failure of hypophysectomy to alter brain content of opioid peptides (endorphins)
Life Sci. 19, 1005-1008

CHI, H.J., S.H. SHIN (1978): Ether induced surge of prolactin in male rats
Neuroendocrinol. 26, 193-201

CHIHARA, K., A. ARIMURA, D.H. COY, A.V. SCHALLY (1978): Studies on the interaction of endorphins, substance P, and endogenous somatostatin in growth hormone and prolactin release in rats
Endocrinol. 102, 281-290

CHUNG S.-H., A. DICKENSON (1980): Pain, enkephalin and acupuncture
Nature 283, 243-244

CICERO, T.J., E.R. MEYER, R.D. BELL, G.A. KOCH (1976a): Effects of morphine and methadone on serum testosterone and luteinizing hormone levels and on the secondary sex organs of the male rat
Endocrinol. 98, 367-372

CICERO, T.J., C.E. WILCOX, R.D. BELL, E.R. MEYER (1976b): Acute reductions in serum testosterone levels by narcotics in the male rat: stereospecificity, blockade by naloxone and tolerance
J. Pharmacol. Exp. Ther. 198, 340-346

CICERO, T.J. (1977): An in vivo assay for the analysis of the biological potency and structure-activity relationship of narcotics: serum testosterone depletion in the male rat
J. Pharmacol. Exp. Ther. 202, 670-675

CICERO, T.J., T.M. BADGER, C.E. WILCOX, R.D.BELL, E.R. MEYER (1977a): Morphine decreases luteinizing hormone by an action on the hypothalamic-pituitary axis
J. Pharmacol. Exp. Ther. 203, 548-554

CICERO, T.J., R.D. BELL, E.R. MEYER, J. SCHWEITZER (1977b): Narcotics and the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: acute effects on luteinizing hormone, testosterone and androgen-dependent systems
J. Pharmacol. Exp. Ther. 201, 76-83

CICERO, T.J., B.A. SCHAINKER, E.R. MEYER (1979): Endogenous opioids participate in the regulation of the hypothalamic-pituitary-luteinizing hormone axis and testosterone's negative feedback control of luteinizing hormone
Endocrinol. 104, 1286-1291

CICERO, T.J., C.E. WILCOX, R.D. BELL, E.R. MEYER (1980): Naloxone-induced increases in serum luteinizing hormone in the male: mechanisms of action
J. Pharmacol. Exp. Ther. 212, 573-578

CICERO, T.J. (1980): Effects of exogenous and endogenous opiates on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the male
Federation Proc. 39, 2551-2554

CLARKE, G., P. WOOD, L. MERRICK, D.W. LINCOLN (1979): Opiate inhibition of peptide release from the neurohumoral terminals of hypothalamic neurones
Nature 282, 746-748

CLEMENS, J.A., B.A. SAWYER (1974): Evidence that methadone stimulates prolactin release by dopamine receptor blockade
Endocr. Res. Commun. 1, 373-378

CLEMENT-JONES V., P.J. LOWRY, L. McLOUGHLIN, G.M. BESSER, L.H. REES, L.H. WEN (1979): Acupuncture in heroin addicts: changes in met-enkephalin and ß-endorphin in blood and cerebrospinal fluid
The Lancet, Aug. 25, 380-383

COLLU, R., J.R. DUCHARME (1975): Role of adrenal steroids in the regulation of gonadotrophin secretion at puberty
J. Steroid. Biochem. 6, 869-872

COX, B.M., E.R. BAIZMAN, T.-P. SU, O.H. OSMAN, A. GOLDstein (1978): Further studies on the nature and functions of pituitary endorphins
Adv. Biochem. Psychopharmacol. 18, 183-189

CRAVISO, G.L., J.M. MUSACCHIO (1978): Inhibition of enkephalin degradation in the guinea pig ileum
Life Sci. 23, 2019-2030

CRINE, P., S. BENJANNET, N.G. SEIDAH, M. LIS, M. CHRÉTIEN (1977): In vitro biosynthesis of ß-endorphin, γ-lipotropin, and ß-lipotropin by the pars intermedia of beef pituitary glands
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 4276-4280, Biochemistry

CRINE, P., N.G. SEIDAH, F. GOSSARD, M. LIS, M. CHRÉTIEN (1979): Processing of two forms of the common precursor for α-melanotropin and ß-endorphin in the rat pars intermedia
Biol. Cellulaire 36, 119-126

CSONTOS, K., M. RUST, V. HÖLLT, W. MAHR, W. KROMER, H.J. TESCHEMACHER (1979): Elevated plasma ß-endorphin levels in pregnant women and their neonates
Life Sci. 25, 835-844

CUSAN, L., A. DUPONT, G.S. KLEDZIK, F.LABRIE, D.H. COY, A.V. SCHALLY (1977): Potent prolactin and growth hormone releasing activity of more analogues of met-enkephalin
Nature 268, 544-547

DANTZER, R., A. FESSARD (1979): Intervention des endorphines dans le comportement emotionnel du porc
C.R. Acad. Sc. Paris 289 (D), 1299-1302

DAVIES, J., A. DRAY (1976): Effects of enkephalin and morphine on renshaw cells in feline spinal cord
Nature 262, 603-604

DEFTOS, L.J., B.D. CATHERWOOD, D.W. BURTON (1980): Dissociation between ACTH and ß-endorphin immunoreactivity in cells of the rat pituitary gland
Life Sci. 27, 223-228

DEYO, S.N., R.M. SWIFT, R.J. MILLER (1979): Morphine and endorphins modulate dopamine turnover in rat median eminence
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 3006-3009

DÖCKE, F., G. DÖRNER (1974): Oestrogen and the control of gonadotrophin secretion in the immature rat. J. Endocr. 63, 285-298

DUFY, B., J.-D. VINCENT, H. FLEURY, P. DU PASQUIER, D. GOURDJI, A. TIXIER-VIDAL (1979): Dopamine inhibition of action potentials in a prolactin secreting cell line is modulated by oestrogen Nature 282, 855-857

DULAR, R., R. LA BELLA, S. VIVIAN, L. EDDIE (1974): Purification of prolactin-releasing and inhibiting factors from beef Endocrinol. 94, 563-567

DUPONT, A., L. CUSAN, M. GARON, F. LABRIE, C.H. LI (1977): ß-endorphin: stimulation of growth hormone release in vivo Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 358-359,Medical Sci.

DUPONT, A., L. CUSAN, M. GARON, G. ALVARADO-URBINA, F. LABRIE (1977a): Extremely rapid degradation of (^{3}H) methionine-enkephalin by various rat tissues in vivo and in vitro Life Sci. 21, 907-914

DUPONT, A., L. CUSAN, F. LABRIE, D.H. COY, C.H. LI (1977b): Stimulation of prolactin release in the rat by intraventricular injection of ß-endorphin and methionine-enkephalin Biochem. Biophys. Res. Commun. 75, 76-82

DUPONT, A., L. CUSAN, L. FERLAND, A. LEMAY, F. LABRIE (1979): Evidence for a role of endorphins in the control of prolactin secretion In: Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides, 283-300, ed. by R. Collu, A. Barbeau, J.R. Ducharme and J.G. Rochefort, Raven Press, New York

DUPONT, A., N. BARDEN, L. CUSAN, Y. MERAND, F. LABRIE, H. VAUDRY (1980): ß-endorphin and met-enkephalins: their distribution, modulation by estrogens and haloperidol, and role in neuroendocrine control Federation Proc. 39, 2544-2550

EBELS, I., A. CITHAVEL, A. MOSZKOWSKA (1975): Separation of pineal extract by gelfiltration J. Neural Transm. 36, 281-302

EDWARDS, R.G. (1980): Polypeptides and their function in the placenta Research in Reprod. 12, 2

EHARA, Y., T. SILER, G. VANDENBERG, Y.N. SINHA, S.S.C. YEN (1973): Circulating prolactin levels during the menstrual cycle: Episodic release and diurnal variation
Am. J. Obstet. Gynec. 177, 962-970

ELDE, R., T. HÖKFELT, (1979): Localization of hypophysiotropic peptides and other biologically active peptides within the brain
Ann. Rev. Physiol. 41, 587-602

ENJALBERT, A., M. RUBERG, C. KORDON (1978): Neuroendocrine control of prolactin secretion
In: Progress in Prolactin Physiology and Pathology, 83-94, ed. by Robyn and Harter, Elsevier/North-Holland, New York

ENJALBERT, A., M. RUBERG, L. FIORE, S. ARANCIBIA, M. PRIAM, C. KORDON (1979a): Effect of morphine on the dopamine inhibition of pituitary prolactin release in vitro
Europ. J. Pharmacol. 53, 211-212

ENJALBERT, A., M. RUBERG, S. ARANCIBIA, M. PRIAM, C. KORDON (1979b): Endogenous opiates block dopamine inhibition of prolactin secretion in vitro
Nature 280, 595-597

EUVRARD, C., J.R. BOISSIER, F. LABRIE (1979): Effect of estrogen on changes in the activity of striatal cholinergic neurons induced by DA drugs
Brain Res. 169, 215-217

EVERETT, J.W. (1978): The mammalian hypothalamo-hypophysial system
In: The Endocrine Hypothalamus, 1-33, ed. by S.L. Jeffcoate and J.S.M. Hutchinson, Academic Press, London - New York - San Francisco

FADEN, A.I., J.W. HOLADAY (1980): Experimental endotoxin shock: the patho-physiologic function of endorphins and treatment with opiate antagonists
J. Infectious Diseases 142, 229-238

FENSKE, M., W. WUTTKE (1977): Development of stress-induced pituitary prolactin and TSH release in male rats
Acta Endocrinol. 83, 729-735

FERLAND, L., K. FUXE, P. ENEROTH, J.-A. GUSTAFSSON, P. SKETT (1977): Effects of methionine-enkephalin on prolactin release and catecholamine levels and turnover in the median eminence
Europ. J. Pharmacol. 43, 89-90

FERLAND, L., G.S. KLEDZIK, L. CUSAN, F. LABRIE (1978): Evidence for a role of endorphins in stress and suckling-induced prolactin release in the rat
J. Mol. Cell. Endocrinol. 12, 267-272

FERRARA, P., R. HOUGHTEN, C.H. LI (1979): ß-endorphin: characteristics of binding sites in the rat brain
Biochem. Biophys. Res. Communic. 89, 786-792

FIELDS, H.L. (1980): Pain is sufficient to activate the endorphin-mediated analgesia system
Behav. Brain Sci. 3, 308

FISHMAN, J., E.F. HAHN, B.I. NORTON (1976): N-demethylation in the brain may be related to opiate receptors and the mechanism of agonist action
Nature 261, 64-65

FOLEY, K.M., I.A. KOURIDES, C.E. INTURRISI, R.F. KAIKO, C.G. ZAROULIS, J.B. POSNER, R.W. HOUDE, C.H. LI (1979): ß-Endorphin: Analgesic and hormonal effects in humans
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 5377-5381, Neurobiology

FOURNIE-ZALUSKI, M.C., G. GACEL, B.P. ROQUES, B. SENAULT, J.M. LECOMTE, B. MALFROY, J.P. SWERTS, J.C. SCHWARTZ (1978): Fluorescent enkephalin derivatives with biological activity
Biochem. Biophys. Res. Communic. 83, 300-305

FREDERICKSON, R.C.A. (1977): Enkephalin pentapeptides - a review of current evidence for a physiological role in vertebrate neurotransmission
Life Sci. 21, 23-42

FREDERICKSON, R.C.A. (1978): Significance of endogenous opioids for regulation of nociceptive sensitivity in the normal and stressed conditions
In: Characteristics and Function of Opioids, 135-146, ed. by Van Ree and Terenius, Elsevier/North-Holland Biomedical Press

FRENCH, E.D., J.F. GARCIA, R. GEORGE (1979): Acute and chronic morphine effects on plasma corticosteroids and growth hormone in the cat
Psychoneuroendocrinol. 3, 237-244

FRENK, H., B.C. McCARTY, J.C. LIEBESKIND (1978): Different brain areas mediate the analgesic and epileptic properties of enkephalin
Science 200, 335-337

FURUKAWA, K., T. NOMOTO, T. TONOUE (1980): Myogenic receptivity for met-enkephalin in the rat duodenum: comparison with the guinea-pig duodenum
Europ. J. Pharmacol. 66, 129-132

GAINER, H., J.T. RUSSELL, D.J. FINK (1979): The hypothalamo-neurohypophysial system: a cell biological model for peptidergic neurons
In: Brain Peptides: A New Endocrinology, III, 139-149, ed. by A.M. Gotto, E.J. Peck and A.E. Boyd, Elsevier/North Holland Biomedical Press

GANG, Z. (1979): Enkephalin involvement in acupuncture analgesia - radioimmunoassay
Herbsttagung 1979, Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Vortrag 5. Sept. 1979

GAYTON, R.J., L.A. LAMBERT, P.B. BRADLEY (1978): Failure of (+)-naloxone to antagonise reponses to opioid peptides
Neuropharmacol. 17, 549-551

GEORGE, S.R., G.R. VAN LOON (1980): ß-endorphin-induced alterations in hypothalamic dopamine (DA) neurons
Clinical Res. 28, 672A

GIAGNONI, G., S.L. SABOL, M. NIRENBERG (1977): Synthesis of opiate peptides by a clonal pituitary tumor cell line
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 2259-2263

GILLAN , M.G.C., H.W. KOSTERLITZ, L.E. ROBSON, A.A. WATERFIELD (1979): The inhibitory effects of presynaptic α-adrenoceptor agonists on contractions of guinea-pig ileum and mouse vas deferens in the morphine-dependent and withdrawn states produced in vitro
Br. J. Pharmac. 66, 601-608

GILLAN, M.G.C., D. POLLOCK (1980): Acute effects of morphine and opioid peptides on the motility and responses of rat colon to electrical stimulation
Br. J. Pharmac. 68, 381-392

GINTZLER, A.R. (1980): Endorphin - mediated increases in pain threshold during pregnancy
Science 210, 193-195

GIULIO DI, A.M., E.M. MAJANE, H.-Y.T. YANG (1979): On the distribution of (met^5)- and(leu^5)-enkephalins in the brain of the rat, guinea-pig and calf
Br.J.Pharmac. 66, 297-301

GOLD, M.S., D.E. REDMOND, R.K. DONABEDIAN (1979): The effects of opiate agonist and antagonist on serum prolactin in primates: possible role for endorphins in prolactin regulation
Endocrinol. 105, 284-289

GOLD, M.S., R. BYCK, D.R. SWEENEY, H.D. KLEBER (1979a): Endorphin-locus coeruleus connection mediates opiate action and withdrawal
Biomedicine 30, 1-4

GOLDBERG, R., N. CONFORTI, I.M. SPITZ (1980): Prolactin and luteinizing hormone response to methionine enkephalin in normal and castrated rats
Israel J. Med. Sci. 16, 410

GOLDSTEIN, A. (1976): Opioid peptides (endorphins) in pituitary and brain
Sience 193, 1081-1086

GOLDSTEIN, A., W.A. KLEE (1977): Endorphin from pituitary inhibits cyclic AMP formation in homogenates of neuroblastoma x glioma hybrid cells
Nature 265, 362-363

GOLDSTEIN, A., S. TACHIBANA, L.I. LOWNEY, M. HUNKAPILLER, L. HOOD (1979): Dynorphin (1-13), an extraordinarily potent opioid peptide
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 6666-6670, Neurobiology

GOODMAN, R.R., H.S. SNYDER, M.J. KUHAR, W.S. YOUNG (1980): Differentiation of delta and mu opiate receptor localizations by light microscopic autoradiography
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 0000-0000, Neurobiology

GORENSTEIN, C., S.H. SNYDER (1979): Two distinct enkephalinases: solubilization, partial purification and separation from angiotensin converting enzyme
Life Sci. 25, 2065-2070

GRÁF, L. (1978): Chemistry and biochemistry of pituitary endorphins
Adv. Pharmacol. Therap. 1, 3-14

GRANAT, M., M. SHARF, B.A. WEISSMAN (1980): Humoral endorphin in human body fluids during pregnancy
Gynecol. Obstet. Invest. 11, 214-218

GRANDISON, L., A. GUIDOTTI (1977): Regulation of prolactin release by endogenous opiates
Nature 270, 357-359

GRANDISON, L., W. FRATTA, A. GUIDOTTI (1980): Location and characterization of opiate receptors regulating pituitary secretion
Life Sci. 26, 1633-1642

GREVERT, P., A. GOLDSTEIN (1977): Effects of naloxone on experimentally induced ischemic pain and on mood in human subjects
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 1291-1294
Psychology

GRIFFITHS,E.C., J.A. KELLY, R. FORBES, S.L. JEFFCOATE, N. WHITE, R.D.G. MILNER, T.J. VISSER (1979): The role of enzymic degradation of brain peptides in neuroendocrine control
In: Brain Peptides: A New Endocrinology, III, 197-209, ed. by A.M. Gotto, E.J. Peck, A.E. Boyd, Elsevier/ North Holland Biomedical Press

GROSVENOR, C.E., N. WHITWORTH (1974): Evidence for a steady rate of secretion of prolactin following suckling in the rat
J. Dairy Sci. 57, 900-904

GRUMBACH, M.M., J.C. ROTH, S.L. KAPLAN, R.P. KELCH (1974): Hypothalamic-pituitary regulation of puberty in man: evidence and concepts derived from clinical research
In: The Control of the Onset of Puberty, 115-166, ed. by M.M. Grumbach, G.D. Grave and F.E. Mayer, J. Wiley, New York

GUERRERO-MUNOZ, F., M.DE LOURDES GUERRERO, E. LEONG WAY, C.H. LI (1979): Effect of ß-endorphin on calcium uptake in the brain
Science 206, 89-91

GUILLEMIN, R., T. VARGO, J. ROSSIER, S. MINICK, N. LING, C. RIVIER, W. VALE, F. BLOOM (1977): ß-endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland
Science 197, 1367-1369

GUILLEMIN, R. (1979): Current studies on ß-endorphin and enkephalins
In: Brain Peptides: A New Endocrinology, III, 1-3, ed. by A.M. Gotto, E.J. Peck, A.E. Boyd, Elsevier/North Holland Biomedical Press

HAHN, E.F., B.I. NORTON, J. FISHMAN (1977): Castration induced increase in rat brain N-demethylation of morphine
Life Sci. 20, 95-99

HAHN, E.F., J. FISHMAN (1979): Changes in rat brain opiate receptor content upon castration and testosterone replacement
Biochem. Biophys. Res. Communic. 90, 819-823

HALDAR, J., W.H. SAWYER (1978): Inhibition of oxytocin release by morphine and its analogs
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 157, 467-480

HAMBROOK, J.M., B.A. MORGAN, M.J. RANCE, C.F.C. SMITH (1976): Mode of deactivation of the enkephalins by rat and human plasma and rat brain homogenates
Nature 262, 782-783

HANKO, J.H., J.E. HARDEBO (1978): Enkephalin-induced dilatation of pial arteries in vitro probably mediated by opiate receptors
Europ. J. Pharmacol. 51, 295-297

HARRIS, A.R.C., D. CHRISTIANSON, M.S. SMITH, S.-L. FANG, L.E. BRAVERMAN, A.G. VAGENAKIS (1978): The physiological role of thyrotropin-releasing hormone in the regulation of thyroid-stimulating hormone and prolactin secretion in the rat
J. Clin. Invest. 61, 441-448

HART, I.C. (1974): The relationship between lactation and the release of prolactin and growth hormone in the goat
J. Reprod. Fertil. 39, 485-499

HART, I.C. (1975): Concentrations of prolactin in serial blood samples from goats, before, during and after milking throughout lactation
J. Endocrinol. 64, 305-312

HART, I.C., A.T. COWIE (1978): Effect of morphine, naloxone and an enkephalin analogue on plasma PRL, GH, insulin and thyroxine in goats
J. Endocrinol. 77, 16P-17P

HAZUM, E., K.-J. CHANG, P. CUATRECASAS (1980): Cluster formation of opiate (enkephalin) receptors in neuroblastoma cells: Differences between agonists and antagonists and possible relationship to biological functions
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 3038-3041, Neurobiology

HERNÁNDEZ, L.L., D.A. POWELL (1980): Effects of naloxone on pavlovian conditioning of eyeblink and heart rate responses in rabbits
Life Sci. 27, 863-869

HERZ, A., T. DUKA, C. GRAMSCH, V.HÖLLT, H. OSBORNE, R. PRZEWLOCKI, R. SCHULZ, M. WÜSTER (1980): Pharmacologic manipulation of brain and pituitary endorphin content and release
In: Neural Peptides and Neuronal Communication, 323-333, ed. by E. Costa and M. Trabucchi, Raven Press, New York

HÖHN, K.G., P. WITTE, W. WUTTKE (1978a): Regional changes in catecholamine (CA)-turnover and CA-synthesizing enzymes in response to ovariectomy and estradiol
Acta Endocrinol. 87, Suppl. 215, 103-107

HÖHN, K.G., W. WUTTKE (1978b): Changes in catecholamine turnover in the anterior part of the mediobasal hypothalamus and the medial preoptic area in response to hyperprolactinemia in ovariectomized rats
Brain Res. 156, 241-252

HÖHN, K.G., W. WUTTKE (1979): Ontogeny of catecholamine turnover rates in limbic and hypothalamic structures in relation to serum prolactin and gonadotropin levels
Brain Res. 179, 281-293

HÖKFELT, T., O. JOHANSSON, Å. LJUNGDAHL, J. LUNDBERG, M. SCHULTZBERG, K. FUXE, B. PERNOW, M. GOLDSTEIN (1979): Peptide neurons
In: Brain peptides: A New Endocrinology, III, 5-25, ed. by A.M. Gotto, E.J. Peck and A.E. Boyd, Elsevier/North Holland Biomedical Press

HOHLWEG, W. (1934): Veränderungen des Hypophysenvorderlappens und des Ovariums nach Behandlung mit großen Dosen von Follikelhormon
Klin. Wschr. 13, 92-95

HOLADAY, J.W., P.-Y. LAW, L.-F. TSENG, H.H. LOH, C.H. LI (1977): ß-endorphin: pituitary and adrenal glands modulate its action
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 4628-4632, Medical Sciences

HOLADAY, J.W., A.I. FADEN (1978a): Naloxone reversal of endotoxin hypotension suggests role of endorphins in shock
Nature 275, 450-451

HOLADAY, J.W., L.-F. TSENG, H.H. LOH, C.H. LI (1978b): Thyrotropin releasing hormone antagonizes ß-endorphin hypothermia and catalepsy
Life Sci. 22, 1537-1544

HONG, J.S., H.-Y.T. YANG, E. COSTA (1977): On the location of methionine enkephalin neurons in rat striatum
Neuropharmacol. 16, 451-453

HONMA, K., K.G. HÖHN, W. WUTTKE (1979): Involvement of catecholamines in eliciting LH peaks in 15 day old female rats: effects of treatment with prolactin
Brain Res. 779, 277-279

HOUCK, J.C., C. KIMBALL, C. CHANG, N.W. PEDIGO, H.I. YAMAMURA (1980): Placental ß-endorphin-like peptides
Science 207, 78-80

HUANG, W.-Y., R.C.C. CHANG, A.J. KASTIN, D.H. COY, A.V. SCHALLY (1979): Isolation and structure of pro-methionine-enkephalin: potential enkephalin precursor from porcine hypothalamus
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 6177-6180

HUGHES, J., H. W. KOSTERLITZ, T.W. SMITH (1977): The distribution of methionine enkephalin and leucine-enkephalin in the brain and peripheral tissues
Br. J. Pharmacol. 61, 639-647

HUGHES, J. (1981): Peripheral opiate receptor mechanisms
TIPS, Januar 81, 21-24, Elsevier/North-Holland Biomedical Press

HUIDOBRO-TORO, J.P., F. HUIDOBRO, R. CROXATTO (1979): Effects of ß-endorphin and D-alanine$_2$ enkephalinamide on urine production and urinary electrolytes in the rat
Life Sci. 24, 697-704

HUIDOBRO-TORO, J.P., E.L. WAY (1980): Rapid development of tolerance to the hyperthermic effect of ß-endorphin, and cross-tolerance between the enkephalins and ß-endorphin
Europ.J. Pharmacol. 65, 221-231

HUTCHINSON, J.S.M. (1978): Control of the endocrine hypothalamus
In: The Endocrine Hypothalamus, 75-105, ed. by S.L. Jeffcoate and J.S.M. Hutchinson, Academic Press London - New York - San Francisco

IEIRI, R., H.T. CHEN, J. MEITES (1979): Effects of morphine and naloxone on serum levels of luteinizing hormone and prolactin in prepubertal male and female rats
Neuroendocrinol. 29, 288-292

IPP, E., R. DOBBS, R.H. UNGER (1978): Morphine and ß-endorphin influence the secretion of the endocrine pancreas
Nature 276, 190-191

IVERSEN, L.L., S.D. IVERSEN, F.E. BLOOM (1980): Opiate receptors influence vasopressin release from nerve terminals in rat neurohypophysis
Nature 284, 350-351

JACQUET, Y.F. (1979): ß-Endorphin and ACTH - Opiate peptides with coordinated roles in the regulation of behaviour?
TINS, June 1979, 140-143, Elsevier/North Holland Biomedical Press

JAFFE, J.H., W.R. MARTIN (1975): Narcotic analgesics and antagonists
In:The Pharmacological Basis of Therapeutics, 245-283, ed. by L.S. Goodman and A. Gibman, MacMillan Publ. & Co. Inc. New York

JEAN-BAPTISTE, E., M.A. RIZACK (1980): In vitro cyclic AMP-mediated lipolytic activity of endorphins, enkephalins and naloxone
Life Sci. 27, 135-141

JEFFCOATE, S.L. (1978): The biochemical investigation of the endocrine hypothalamus
In: The Endocrine Hypothalamus, 107-148, ed. by S.L. Jeffcoate and J.S.M. Hutchinson, Academic Press London - New York - San Francisco

JHAMANDAS, K., J. SAWYNOK, M. SUTAK (1977): Enkephalin effects on release of brain acetylcholine
Nature 269, 433-434

JULLIARD, J.H., T. SHIBASAKI, N. LING, R. GUILLEMIN (1980): High-molecular-weight immunoreactive ß-endorphin in extracts of human placenta is a fragment of immunoglobulin G
Science 208, 183-185

KALIN, N.H., S.C. RISCH, R.M. COHEN, T. INSEL, D.L. MURPHY (1980): Dexamethasone fails to suppress ß-endorphin plasma concentrations in humans and rhesus monkeys
Sience 209, 827-828

KANGAWA, K., H. MATSUO, M. IGARASHI (1979): ∝-neo-endorphin: a "big" leu-enkephalin with potent opiate activity from porcine hypothalami
Biochem. Biophys. Res. Communic. 86, 153-160

KASTIN, A.J., M.T. JEMISON, D.H. COY (1979): Analgesia after peripheral administration of enkephalin and endorphin analogues
Pharmacol. Biochem. Behav. 11, 713-716

KATZ, R.J., K.A. ROTH (1979): Stress induced grooming in the rat - an endorphin mediated syndrome
Neurosci. Letters, 13,209-212

KIMURA, S., R.V. LEWIS, A.S. STERN, J. ROSSIER, S. STEIN, S. UDENFRIEND (1980): Probable precursors of (leu)enkephalin and (met)enkephalin in adrenal medulla: peptides of 3-5 kilodaltons
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 1681-1685, Neurobiology

KING, M.G., A.J. KASTIN, R.D. OLSON, D.H. COY (1979): Systemic administration of met-enkephalin, (D-Ala^2)-met-enkephalin, ß-endorphin, and (D-Ala^2)-ß-endorphin: effects on eating, drinking and activity measures in rats
Pharmacol. Biochem. Behav. 11, 407-411

KIRBY, M.L. (1981): Development of opiate receptor binding in rat spinal cord
Brain Res. 205, 400-404

KNOLL, J. (1976): Neuronal peptide (enkephalin) receptors in the ear artery of the rabbit
Europ. J. Pharmacol. 39, 403-407

KNORRING, L. von, B.G.L. ALMAY, F. JOHANSSON, L. TERENIUS (1978): Pain perception and endorphin levels in cerebrospinal fluid
Pain 5, 359-365

KOBAYASHI, R.M., M. PALKOVITS, R.J. MILLER, K.-J. CHANG, P. CUATRECASAS (1978): Brain enkephalin distribution is unaltered by hypophysectomy
Life Sci. 22, 527-530

KOENIG, J.I., M.A. MAYFIELD, S.M. McCANN, L. KRULICH (1979): Stimulation of prolactin secretion by morphine: role of the central serotonergic system
Life Sci. 25, 853-864

KOKKA, N., J.F. GARCIA, H.W. ELLIOTT (1973): Effects of acute and chronic administration of narcotic analgesics on growth hormone and corticotrophin (ACTH) secretion in rats
Prog. Brain Res. 39, 347-360

KONTUREK, S.J., W. PAWLIK, J. TASLER, P. THOR, K. WALUŚ, R. KRÓL, J. JAWOREK, A.V. SCHALLY (1978): Effects of enkephalin on the gastrointestinal tract
In: Gut Hormones, ed. by S.R. Bloom, 507-512

KORCZYN, A.D., Y. ESHEL, O. KEREN (1980): Enkephalin mydriasis in mice
Europ. J. Pharmacol. 65, 285-287

KORDON, C. (1979): Role and regulation of neuropeptide neurons
In: Central Regulation of the Endocrine System, 473-488, ed. by K. Fuxe, T. Hökfelt and R. Luft, Plenum Publ. Corp.

KORDON, C., A. ENJALBERT, J. EPELBAUM, W. ROTSZTEJN (1979): Neurotransmitter interactions with adenohypophyseal regulation
In: Brain Peptides: A New Endocrinology, III, 277-293, ed. by A.M. Gotto, E.J. Peck, A.E. Boyd, Elsevier/North Holland Biomedical Press

KOSTERLITZ, H.W. (1979): Endogenous opioid peptides and the control of pain
Psychol. Med. 9, 1-4

KREY, L.C., W.R. BUTLER, G. WEISS, R.F. WEICK, D.J. DIERSCHKE, E. KNOBIL (1973): Influence of endogenous and exogenous gonadal steroids on the actions of synthetic LRF in the rhesus monkey
In: Hypothalamic Hypophysiotrophic Hormones, 39-47 ed. by C. Gual and E. Rosenberg, Excerpta Medica, Amsterdam

KRIEGER, D.T. (1979): Physiological significance and anatomic distribution of ACTH, LPH, MSH and endorphin in the central nervous system
In: Brain Peptides: A New Endocrinology, III, 41-45, ed. by A.M. Gotto, E.J. Peck, A.E. Boyd, Elsevier/North Holland Biomedical Press

KRIEGER, D.T., A.S. LIOTTA (1979a): Pituitary Hormones in brain: where, how and why?
Science 205, 366-372

KRIEGER, D.T., A.S. LIOTTA, H. HAUSER, M.J. BROWNSTEIN (1979b): Effect of stress, adrenocorticotropin or corticosteroid treatment, adrenalectomy, or hypophysectomy on hypothalamic immunoreactive adrenocorticotropin concentrations
Endocrinol. 105, 737-742

KRULICH, L. (1979): Central neurotransmitters and the secretion of prolactin, GH, LH and TSH
A. Rev. Physiol. 41, 603-615

KUBEK, M.J., J.F. WILBER (1980): Regional distribution of leucine-enkephalin in hypothalamic and extrahypothalamic loci of the human nervous system
Neurosci. Letters 18, 155-161

KUMAKURA, K., A. GUIDOTTI, H.-Y. T. YANG, L. SAIANI, E. COSTA (1980): A role for the opiate peptides that presumably coexist with acetylcholine in splanchnic nerves
In: Neural Peptides and Neuronal Communication, 571-580, ed. by E. Costa and M. Trabucchi, Raven Press, New York

KUMAR, M.S.A., C.L. CHEN, T.F. MUTHER (1979a): Changes in the pituitary and hypothalamic content of methonine-enkephalin during the estrous cycle of rats
Life Sci. 25, 1687-1696

KUMAR, M.S.A., K.S. ESTES, C.L. CHEN (1979b): Prog. and Abstracts 61st. Annual Meeting of the Endocrine Soc., 107

KUSCHINSKY, K. (1979): Zur Physiologie und Pharmakologie von Endorphinen
Klin. Wochenschr. 57, 701-710

LAASBERG, L.H., E.E. JOHNSON, J. HEDLEY-WHYTE (1980): Effect of morphine and naloxone on leu-enkephalin-like immunoreactivity in dogs
J. Pharmacol. Experim. Therap. 212, 496-502

LABRIE, F., A. DUPONT, L. CUSAN, J.C. LISSITZKY, J. LEPINE, V. RAYMOND, D.H. COY (1977): Effects of endorphins and their analogues on prolactin and growth hormone secretion
Endorphins in Mental Health Research, San Juan, Puerto Rico

LABRIE, F., M. BEAULIEU, M.G. CARON, V. RAYMOND (1978): The adenohypophyseal dopamine receptor: specificity and modulation of its activity by estradiol
In: Progress in Prolactin Physiology and Pathology, 121-136, ed. by Robyn and Harter, Elsevier/North Holland, Amsterdam

LANCRANJAN, I., E. DEL POZO, E. OHNHAUS (1978): Inhibitory effect of guanfacine, a central α-adrenoceptor agonist, on prolactin secretion
J. clin. Endocrinol. Metab. 47, 671-674

LARSSON, L.-I., S. CHILDERS, S.H. SNYDER (1979): Met- and leu-enkephalin immunoreactivity in separate neurones
Nature 282, 407-410

LAUBER, M., M. CAMIER, M.-J.O. MASSE, P. COHEN (1979): Neurohypophyseal peptides precursors in the hypothalamo-neurohypophysis tract, immunological characterization of higher molecular weight forms of neurophysins, somatostatin and endorphins
Biol. Cellulaire 36, 111-118

LAW, P.-Y., H.H. LOH (1978): ^{3}H-leu^{5}-enkephalin specific binding to synaptic membrane - comparison with ^{3}H-dihydromorphine and ^{3}H-naloxone
Res. Communic. Chem. Pathol. Pharmacol. 21, 409-434

LAW, P.-Y., H.H. LOH, C.H. LI (1979): Properties and localization of ß-endorphin receptor in rat brain
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 5455-5459, Biochemistry

LEEUWEN, F.W. VAN, C.DE RAAY, D.F. SWAAB, B. FISSER (1979): The localization of oxytocin, vasopressin, somatostatin and luteinizing hormone releasing hormone in the rat neurohypophysis
Cell Tissue Res. 202, 189-201

LEGAN, S.J., G.A. COON, F.J. KARSCH (1975): Role of estrogen as initiator of daily LH-surges in the ovariectomized rat
Endocrinol. 96, 50-56

LEMAIRE, S., J. MAGNAN, D. REGOLI (1978a): Rat vas deferens: a specific bioassay for endogenous opioid peptides
Br. J. Pharmac. 64, 327-329

LEMAIRE, S., A. BÉRUBÉ, G. DEROME, I. LEMAIRE, J. MAGNAN, D. REGOLI, S.S. PIERRE (1978b): Synthesis and biological activity of ß-endorphin and analogues. Additional evidence for multiple opiate receptors J. Medicinal Chemistry 21, 1232-1235

LEWIS, R.V., A.S. STERN, J. ROSSIER, S. STEIN, S. UDENFRIEND (1979): Putative enkephalin precursors in bovine adrenal medulla
Biochem. Biophys. Res. Communic. 89, 822-829

LICHTBLAU, L., L.H. FOSSOM, S.B. SPARBER (1977): ß-endorphin: dose-dependent suppression of fixed-ratio operant behavior
Life Sci. 21, 927-932

LIN, M.T., A. CHANDRA, C.Y. SU (1980): Naloxone produces hypothermia in rats pretreated with beta-endorphin and morphine
Neuropharmacol. 19, 435-441

LINCOLN, D.W. (1978): Investigation of hypothalamic function: anatomical and physiological studies
In: The Endocrine Hypothalamus, 35-74, ed. by S.L. Jeffcoate and J.S.M. Hutchinson, Academic Press London - New York - San Francisco

LISSITZKY, J.C., P. GIRAUD, B. CONTE-DEVOLX, P. GILLIOZ, F. BOUDOURESQUE, R.L. ESKAY, C. OLIVER (1980): ß-endorphin is present in high concentration in the hypophysial portal vessels of rats
Neurosci. Letters 19, 191-195

LLORENS-CORTES, C., H. POLLARD, J.-C. SCHWARTZ, P. PRADELLES, C. GROS, F. DRAY (1977): Endorphins in several regions of rat brain: large differences between radioimmunoassay and radioreceptor assay
Europ. J. Pharmacol. 46, 73-74

LLOYD, H.M., J.D. MEARES, J. JACOBI (1975): Effects of estrogen and bromocriptine on in vivo secretion and mitosis in prolactin cells
Nature 255, 497-498

LÖFSTRÖM, A., G. JONSSON, F.A. WIESEL, K. FUXE (1976): Microfluorimetric quantitation of catecholamines in the rat median eminence
J. Histochem. Cytochem. 24, 430-437

LÖFSTRÖM, A., P. ENEROTH, J.A. GUSTAFSSON, P. SKETT (1977): Effects of estradiol benzoate on catecholamine levels and turnover in discrete areas of the median eminence and the limbic forebrain, and on serum luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and prolactin concentrations in the ovariectomized female rat
Endocrinol. 101, 1559-1569

VAN LOON, G.R., E.B. DE SOUZA, S.H. SHIN (1980): Dopaminergic mediation of ß-endorphin-induced prolactin secretion
Neuroendocrinol. 31, 292-296

LORD, J.A.H., A.A. WATERFIELD, J. HUGHES, H.W. KOSTERLITZ (1976): Multiple opiate receptors
In: Opiates and Endogenous Opioid Peptides, 275-280, ed. by H.W. Kosterlitz, Elsevier/ North Holland, Amsterdam, New York, Oxford

LORD, J.A.H., A.A. WATERFIELD, J. HUGHES, H.W. KOSTERLITZ (1977): Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors
Nature 267, 495-499

LOWNEY, L.I., S.B. GENTLEMAN, A. GOLDSTEIN (1979): A pituitary endorphin with novel properties
Life Sci. 24, 2377-2384

LUNDBERG, J.M., B. HAMBERGER, M. SCHULTZBERG, T. HÖKFELT, P.O. GRANBERG, S. EFENDIĆ, L. TERENIUS, M. GOLDSTEIN, R. LUFT (1979a): Enkephalin- and somatostatin-like immunoreactivities in human adrenal medulla and pheochromocytoma
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 4079-4083, Medical Sciences

LUNDBERG, J.M., T. HÖKFELT, J. KEWENTER, G. PETTERSSON, H. AHLMAN, R. EDIN, A. DAHLSTRÖM, G. NILSSON, L. TERENIUS, K. UVNÄS-WALLENSTEN, S. SAID (1979b): Substance P-, VIP-, and enkephalin-like immunoreactivity in the human vagus nerve
Gastroenterol. 77, 468-471

MacKINNON, P.C.B., J.M. MATTOK, M.B. TER HAAR (1976): Serum gonadotrophin levels during development in male, female and androgenized female rats and the effect of general disturbance on high luteinizing hormone levels
J. Endocrinol. 70, 361-371

MacLEAN, P.D. (1972): Cerebral evolution and emotional processes: new findings on the striatal complex
Ann. N.Y. Acad. Sci. 193, 137-149

MADDEN, J., H. AKIL, R.L. PATRICK, J.D. BARCHAS (1977): Stress-induced parallel changes in central opioid levels and pain responsiveness in the rat Nature 265, 358-360

MAINS, R.E., B.A. EIPPER (1979): Synthesis and secretion of corticotropins, melanotropins and endorphins by rat intermediate pituitary cells J. Biol. Chem. 254, 7885-7889

MALFROY, B., J.P. SWERTS, C. LLORENS, J.C. SCHWARTZ (1979): Regional distribution of a high-affinity enkephalin degrading peptidase (enkephalinase) and effects of lesions suggest localization in the vicinity of opiate receptors in brain Neurosci. Letters 11, 320-334

MANN, D.R., C.A. BARRACLOUGH (1973): Role of estrogen and progesterone in facilitating LH-release in 4-day cyclic rats Endocrinol. 93, 694-699

MARGULES, D.L. (1979): ß-endorphin and endoloxone: hormones of the autonomic nervous system for the conservation or expenditure of bodily resources and energy in anticipation of famine or feast Neurosci. Biobehav. Rev. 3, 155-162

MARTIN, J.B., G. TOLIS, I. WOODS, H. GUYDA (1979): Failure of naloxone to influence physiological growth hormone and prolactin secretion Brain Res. 168, 210-215

MARTON, I., I. MOLNAR, K. KÖVES, B. HALÁSZ (1981): Naloxone reversal of the pentobarbital induced blockade of ovulation in the rat Life Sci. 28, 737-743

MARWAHA, J., G.B. FRANK (1980): Candidate mechanisms for inhibition of neurotransmitter release by narcotic analgesics and endorphins Drug Al. Dep. 5, 69-80

McCALLUM, R.W., J. DODDS, H.P. OSBORNE, P. BIANCANI (1980): Effect of enkephalin and other opiates on opossum lower esophageal sphincter In: Gastrointestinal Motility, 37-41, ed. by J. Christensen, Raven Press, New York

McCANN, S.M., S.R. OJEDA, C. LIBERTUM, P.G. HARMS, L. KRULICH (1974): Drug-induced alterations in gonadotropin and prolactin release in the rat In: Narcotics and the Hypothalamus, 121-136, ed. by E. Zimmerman and R. George, Raven Press, New York

McCANN, S.M., L. KRULICH, S.R. OJEDA, A. NEGRO-VILAR, E. VIJAYAN (1979): Neurotransmitters in the control of anterior pituitary function
In: Central Regulation of the Endocrine System 329-347, ed. by K. Fuxe, T. Hökfelt and R. Luft, Plenum Press, New York, London

McCANN, S.M. (1980): Control of anterior pituitary hormone release by brain peptides
Neuroendocrinol. 31, 355-363

McCLOY, J., R.F. McCLOY (1979): Enkephalins, hunger and obesity
The Lancet, July 21, 156

McKNIGHT, A.T., H.W. KOSTERLITZ (1980): Opioid peptides and pituitary function
J. Reprod. Fert. 58, 513-519

MEIJS-ROELOFS, H.M.A., J.T. J. UILENBROEK, F.H. DE JONG, R. WELSCHEN (1973): Plasma oestradiol-17ß and its relation to serum follicle-stimulating hormone in immature female rats
J. Endocrinol. 59, 295-312

MEIJS-ROELOFS, H.M.A., W.J. DE GREEF, J.T.J. UILENBROCK (1975): Plasma progesterone and its relationship to serum gonadotrophins in female rats
J. Endocrinol. 64, 329-336

MEITES, J. (1962): Pharmacological control of prolactin secretion and lactation
In: Pharmacological Control of Release of Hormones Inducing Antidiabetic Drugs, 151-180, ed. by R. Guillemin, Pergamon Press, London

MEITES, J., J.F. BRUNI, D.A. VAN VUGT (1979): Effects of endogenous opiate peptides on release of anterior pituitary hormones
In: Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides, 261-271, ed. by R. Collu, A. Barbeau, J.R. Ducharme and J.G. Rochefort

MEITES, J., J.F. BRUNI, D.A. VAN VUGT, A.F. SMITH (1979a): Relation of endogenous opioid peptides and morphine to neuroendocrine functions
Life Sci. 24, 1325-1336

MEITES, J. (1980): Relation of endogenous opioid peptides to secretion of hormones
Federation Proc. 39, 2531-2532

MENDELSON, J.H., J. ELLINGBOE, J.C. KUEHNLE, N.K. MELLO (1979): Effects of naltrexone on mood and neuroendocrine function in normal adult males
Psychoneuroendocrinol. 3, 231-236

MENDELSON, J.H., J. ELLINGBOE, J.C. KUEHNLE, N.K. MELLO (1980): Heroin and naltrexone effects on pituitary-gonadal hormones in man: interaction of steroid feedback effects, tolerance and supersensitivity
J. Pharmacol. Exp. Therap. 214, 503-506

MEYERSON, B.J., L. TERENIUS (1977): ß-endorphin and male sexual behavior
Europ. J. Pharmacol. 42, 191-192

MEZEY, É., P. KIVOVICS, M. PALKOVITS (1979): Pituitary-brain retrograde transport
Elsevier/ North Holland, Biomedical Press, 57-60

MINNEMAN, K.P., L.L. IVERSEN (1976): Enkephalin and opiate narcotics increase cyclic GMP accumulation in slices of rat neostriatum
Nature 262, 313-314

MITZNEGG, P., W. DOMSCHKE, W. SPRÜGEL, S. DOMSCHKE, N. SUBRAMANIAN, E. WÜNSCH, L. MORODER, L. DEMLING (1977): Enkephalins inhibit intestinal motility: mode of action
Acta Hepato-Gastroenterol. 24, 119-120

MOAL, M. LE, G.F. KOOB, F.E. BLOOM (1979): Endorphins and extinction: differential actions on appetitive and adversive tasks
Life Sci. 24, 1631-1636

MORLEY, J.E., (1980): The neuroendocrine control of appetite: the role of the endogenous opiates, cholecystokinin, TRH, gamma-amino-butyric-acid and the diazepam receptor
Life Sci. 27, 355-368

MORLEY, J.E., N.G. BARANETSKY, T.D. WINGERT, H.E. CARLSON, J.M. HERSHMAN, S. MELMED, S.R. LEVIN, K.R. JAMISON, R. WEITZMAN, R.J. CHANG, A.A. VARNER (1980): Endocrine effects of naloxon-induced opiate receptor blockade
J. Clin. Endocrinol. Metabol. 50, 251-257

MOSS, I.R., E. FRIEDMAN (1978): ß-endorphin: effects on respiratory regulation
Life Sci. 23, 1271-1276

MURAKI, T., Y. TOKUNAGA (1977a): Inhibitory effect of morphine on serum gonadotropins and prolactin of proestrous rats
Jap. J. Pharmacol. 27, 461-462

MURAKI, T., Y. TOKUNAGA, T. MAKINO (1977b): Effects of morphine and naloxone on serum LH, FSH and prolactin levels and on hypothalamic content of LH-RF in proestrous rats
Endocrinol. Jap. 24, 313-315

MURAKI, T., Y. TOKUNAGA (1978): Effects of morphine on the serum prolactin levels of morphine-tolerant and nontolerant male rats and on the in vitro release of pituitary prolactin
Jap. J. Pharmacol. 28, 803-810

MURAKI, T., H. NAKADATE, Y. TOKUNAGA, R. KATO, T. MAKINO (1979): Effect of narcotic analgesics and naloxone on proestrous surges of LH, FSH and prolactin in rats
Neuroendocrinol. 28, 241-247

NAKAI, Y., K. NAKAO, S. OKI, H. IMURA (1978): Presence of immunoreactive ß-lipotropin and ß-endorphin in human placenta
Life Sci. 23, 2013-2018

NEALE, J.H., J.L. BARKER, G.R. UHL, S.H. SNYDER (1978): Enkephalin-containing neurons visualized in spinal cord cell cultures
Science 201, 467-469

NICOLL, C.S. (1972): Some observations and speculation on the mechanism of "depletion", "repletion" and release of adenohypophyseal hormones
Gen. Comp. Endocrinol. 3, 86-95

NICOLL, R.A., B.E. ALGER, C.E. JAHR (1980): Enkephalin blocks inhibitory pathways in the vertebrate CNS
Nature 287, 22-25

NIJKAMP, F.P., J.M. VAN REE (1980): Effects of endorphins on different parts of the gastrointestinal tract of rat and guinea-pig in vitro
Br. J. Pharmacol. 68, 599-606

NORTH, R.A., J.T. WILLIAMS (1976): Enkephalin inhibits firing of myenteric neurones
Nature 264, 460-461

NORTH, R.A. (1978): Opiates, opioid peptides and single neurones
Life Sci. 24, 1527-1546

NORTH, R.A., Y. KATAYAMA, J.T. WILLIAMS (1979): On the mechanism and site of action of enkephalin on single myenteric neurons
Brain Res. 165, 67-77

OJEDA, S.R., P.G. HARMS, S.M. McCANN (1974): Possible role of cyclic AMP and prostaglandin E_1 in the dopaminergic control of prolactin release
Endocrinol. 95, 1694-1703

OJEDA, S.R., A. NEGRO-VILAR, S.M. McCANN (1979): Release of prostaglandin E (PGE) by hypothalamic tissue: evidence for their involvement in catecholamine - induced LHRH release
Endocrinol. 104, 617-624

OKA, T., A. SAWA (1979): Calcium requirements for electrically-induced release of an endogenous opiate receptor ligand from the guinea-pig ileum
Br. J. Pharmacol. 65, 3-5

OKA, T. (1980): Enkephalin receptor in the rabbit ileum
Br. J. Pharmacol. 68, 193-195

OLSON, R.D., A.J. KASTIN, G.J. LAHOSTE, G.A. OLSON, D.H. COY (1979): Possible non-narcotic component to action of opiate peptides on tonic immobility
Pharmacol. Biochem. Behav. 11, 705-708

OPMEER, F.A., J.M. VAN REE (1980): Differential involvement of calcium in acute and chronic opioid action in the guinea-pig ileum in vitro
J. Pharmacol. Exp. Therap. 213, 185-195

OYAMA, T., A. MATSUKI, T. TANEICHI, N. LING, R. GUILLEMIN (1980a): ß-endorphin in obstetric analgesia
Am. J. Obstet. Gynecol. 137, 613-616

OYAMA, T., T. JIN, R. YAMAYA, N. LING, R. GUILLEMIN (1980b): Profound analgesic effects of ß-endorphin in man
The Lancet, January 19, 122-124

PACKMAN, P.M., J.A. ROTHCHILD (1976): Morphine inhibition of ovulation: reversal by naloxone
Endocrinol. 99, 7-10

PALKOVITS, M., A. ARIMURA, M. BROWNSTEIN, A.V. SCHALLY, J.M. SAAVEDRA (1974): Luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) content of the hypothalamic nuclei in rat
Endocrinol. 95, 554-558

PANG, C.N., E. ZIMMERMANN, C.H. SAWYER (1977): Morphine inhibition of the preovulatory surges of plasma luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in the rat
Endocrinol. 101, 1726-1732

PARKER, D.C., L.G. ROSSMAN, E.F. VAN DER LAAN (1974): Relation of sleep-entrained human prolactin release to REM-non REM cycles.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 38, 646-651

PARVIZI, N., F. ELLENDORFF (1980): ß-endorphin alters luteinizing hormone secretion via the amygdala but not the hypothalamus
Nature 286, 812-813

PASCAUD, X.B., M.G. GENTON, G. REMOND, M. VINCENT (1980): Antral to colonic motility responses to intracerebroventricular administration of D-Ala-2-enkephalinamide, ß-endorphin, methionine-enkephalin and fentanyl in anesthesized rats
In: Gastrointestinal Motility, 459-466, ed. by J. Christensen, Raven Press, New York

PATEY, G., S. DE LA BAUME, C. GROS, J.-C. SCHWARTZ (1980): Ontogenesis of enkephalinergic systems in rat brain: post-natal changes in enkephalin levels, receptors and degrading enzyme activities
Life Sci. 27, 245-252

PEPPER, C.M., G. HENDERSON (1980): Opiates and opioid peptides hyperpolarize locus coeruleus neurons in vitro
Science 209, 394-396

PERT, C.B., D.P. TAYLOR, A. PERT, M.A. HERKENHAM, J.L. KENT (1980): Biochemical and autoradiographical evidence for type 1 and type 2 opiate receptors
In: Neural Peptides and Neuronal Communication, 581-589, ed. by E. Costa and M. Trabucchi, Raven Press, New York

POLLARD, H., C. LLORENS-CORTES, J.-C. SCHWARTZ (1977): Enkephalin receptors on dopaminergic neurones in rat striatum
Nature 268, 745-747

POMERANZ, B., D. CHIU (1976): Naloxone blockade of acupuncture analgesia: endorphin implicated
Life Sci. 19, 1757-1762

POMERANZ, B. (1977): Brain's opiates at work in acupuncture?
New Scientist 73, 12-13

PONTIROLI,A.E., G. POZZA (1978): Histamine stimulates prolactin release in normal men
Acta Endocrinol. 88, 23-28

POZO DEL, E., J. HIBA, I. LANCRANJAN, H.I. KÜNZIG (1977): Prolactin measurements throughout the life cycle: endocrine correlations
In: Prolactin and Human Reproduction, 61-69, ed. by Crosignani and Robyn, Acad. Press, London

POZO DEL, E., J. BROWNELL (1979): Prolactin
Hormone Res. 10, 143-172

QUEEN, G., C. PINSKY, F. LA BELLA (1976): Subcellular localization of endorphine activity in bovine pituitary and brain
Biochem. Biophys. Res. Commun. 72, 1021-1027

QUIGLEY, M.E., S.S.C. YEN (1980): The role of endogenous opiates on LH secretion during the menstrual cycle
J. Clin. Endocrinol. Metab. 51, 179-181

RAISMAN, G. (1974): Anatomical and functional studies on the preoptic area and its involvement in the initiation of ovulation in the female rat.
Adv. Biosci. 15, 25-34

RAMABADRAN, K., J.J.C. JACOB (1979): Stereospecific effects of opiate antagonists on superficial and deep nociception and on motor activity suggest involvement of endorphins on different opioid receptors
Life Sci. 24, 1959-1970

RAMALAY, J.A. (1974): Mini review: adrenal-gonadal interactions at puberty
Life Sci. 14, 1623-1633

RAPOPORT, S.I., W.A. KLEE, K.D. PETTIGREW, K. OHNO (1980): Entry of opioid peptides into the central nervous system
Science 207, 84-86

RAYMOND, V., M. BEAULIEU, F. LABRIE, J. BOISSIER (1978): Potent antidopaminergic activity of estradiol at the pituitary level on prolactin release
Science 200, 1173-1175

RAYMOND, V., J. LÉPINE, J.-C. LISSITZKY, J. CÔTÉ, F. LABRIE (1979): Parallel release of ACTH, ß-endorphin, α-MSH and ß-MSH-like immunoreactivities in rat anterior pituitary cells in culture
Molecul. Cell. Endocrinol. 16, 113-122

REDDY, P.V., S. AZHAR, K.M.J. MENON (1980): Multiple inhibitory actions of luteinizing hormone-releasing hormone agonist on luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptor-mediated ovarian responses
Endocrinol. 107, 930-936

REITER, R.J. (1974): Pineal regulation of hypothalamic pituitary axis: gonadotrophins
In: Handbook of Physiology, 7, IV, 519-562, ed. by E. Knobil and W.H. Sawyer, American Physiological Society, Washington, D.C.

REITER, R.J., M.K. VAUGHAN (1975): A study of indoles which inhibit pineal antigonadotrophic activity in male hamsters
Endocrinol. Res. Commun. 2, 299-308

RILEY, A.L., D.A. ZELLNER, H.J. DUNCAN (1980): The role of endorphins in animal learning and behavior
Neurosci. Biobehav. Rev. 4, 69-76

RIVIER, C., W. VALE (1977): Effects of γ-aminobutyric acid and histamine on prolactin secretion in the rat
Endocrinol. 101, 506-511

RISCH, S.C., R.M. COHEN, D.S. JANOWSKY, N.H. KALIN, D.L. MURPHY (1980): Mood and behavioral effects of physostigmine on humans are accompanied by elevation in plasma ß-endorphin and cortisol
Science 209, 1545-1546

RØNNEKLIEV, O.K., L. KRULICH, S.M. McCANN (1973): An early morning surge of prolactin in the male rat and its abolition by pinealectomy
Endocrinol. 92, 1339-1342

ROSSIER, J., E.D. FRENCH, C.RIVIER, N.LING, R. GUILLEMIN, F.E. BLOOM (1977a): Foot-shock induced stress increases ß-endorphin levels in blood but not brain
Nature 270, 618-620

ROSSIER, J., T.M. VARGO, S.MINICK, N.LING, F.E. BLOOM, R. GUILLEMIN (1977b): Regional dissociation of ß-endorphin and enkephalin contents in rat brain and pituitary
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 5162-5165

ROSSIER, J., A. BAYON, T.M. VARGO, N. LING, R. GUILLEMIN, F.E. BLOOM (1977c): Radioimmunoassay of brain peptides: evaluation of a methodology for the assay of ß-endorphin and enkephalin
Life Sci. 21, 847-852

ROSSIER, J., E. FRENCH, C. GROS, S. MINICK, R. GUILLEMIN, F.E. BLOOM (1979a): Adrenalectomy, dexamethasone or stress alters opioid peptides levels in rat anterior pituitary but not intermediate lobe or brain
Life Sci. 25, 2105-2112

ROSSIER, J., E. BATTENBERG, Q. PITTMAN, A. BAYON, L. KODA, R. MILLER, R. GUILLEMIN, F.E. BLOOM (1979b): Hypothalamic enkephalin neurones may regulate the neurohypophysis
Nature 277, 653-655

ROSSIER, J., E. FRENCH, C. RIVIER, T. SHIBASAKI, R. GUILLEMIN, F.E. BLOOM (1980a): Stress-induced release of prolactin: Blockade by dexamethasone and naloxone may indicate ß-endorphin mediation
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 666-669

ROSSIER, J., Q. PITTMAN, F.E. BLOOM, R. GUILLEMIN (1980b): Distribution of opioid peptides in the pituitary: a new hypothalamic-pars nervosa enkephalinergic pathway
Federation Proc. 39, 2555-2560

ROTSZTEJN, W.H., J.L. CHARLI, E. PATTOU, J. EPELBAUM, C. KORDON (1976): In vitro release of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) from rat mediobasal hypothalamus: effects of potassium, calcium and dopamine
Endocrinol. 99, 1663-1666

ROTSZTEJN, W.H., J.L. CHARLI, E. PATTOU, C. KORDON (1977): Stimulation by dopamine of luteinizing hormone-releasing hormon (LH-RH) release from the mediobasal hypothalamus in male rats
Endocrinol. 101, 1475-1483

ROTSZTEJN, W.H., S.V. DROUVA, E. PATTOU, C. KORDON (1978): Met.enkephalin inhibits in vitro dopamine-induced LH-RH release from mediobasal hypothalamus of male rats
Nature 274, 281-282

ROZÉ, C., M. DUBRASQUET, J. CHARIOT, C. VAILLE (1980): Central inhibition of basal pancreatic and gastric secretions by ß-endorphin in rats
Gastroenterol. 79, 659-664

RUF, K.B. (1973): How does the brain control the process of puberty?
Z. Neurol. 204, 96-105

RYU, K., J.A. WILLIAMS, R.V. GALLO (1980): Studies on a possible pituitary effect of monoamines on luteinizing hormone release in ovariectomized rats
Life Sci. 27, 1083-1087

SABOL, S.L. (1980): Storage and secretion of ß-endorphin and related peptides by mouse pituitary tumor cells: regulation by glucocorticoids
Arch. Biochem. Biophys. 203, 37-48

SANTAGOSTINO, A., G. GIAGNONI, M. DENTI, E. GORI (1979): Dependence liability of pituitary opioids in the myenteric plexus of the guinea pig
IRCS Medical Sci.: Biochem.; Nervous System; Pharmacol.; Physiol. 7, 506

SARNE, Y., I. GIL-AD, Z. LARON (1981): Regulation of hypophysial secretion by endogenous opiates: humoral endorphin stimulates the release of growth hormone
Life Sci. 28, 681-686

SAWYER, C.H. (1963): Discussion
In: Advances in Neuroendocrinology, 444-457, ed.by A.V. Nalbandov, University of Illinois Press, Urbana, IL

SHAAR, C.J., R.C.A. FREDERICKSON, N.B. DININGER, L. JACKSON (1977): Enkephalin analogues and naloxone modulate the release of growth hormone and prolactin - evidence for regulation by an endogenous opioid peptide in brain
Life Sci. 21, 853-860

SHARP, P.J., H.M. FRASER (1978): Control of reproduction
In: The Endocrine Hypothalamus, 271-332, ed. by S.L. Jeffcoate and J.M.S. Hutchinson, Academic Press, London, New York, San Francisco

SHARP, B., A.E. PEKARY, N.V. MEYER, J.M. HERSHMAN (1980): ß-endorphin in male rat reproductive organs
Biochem. Biophys. Res. Commun. 95, 618-623

SHAW, J.S., M.J. TURNBULL, A.S. DUTTA, J.J. GORMLEY, C.F. HAYWARD, G.J. STACEY (1978): A structure-activity study with enkephalin analogues: further evidence for multiple opiate receptor types
In: Characteristics and Function of Opioids, 185-195, ed. by Van Ree and Terenius, Elsevier North-Holland, Biomedical Press

SHAW, J.S. (1979): Characterization of opiate receptors in the isolated rat rectum
Proceedings of the B.P.S., 17th-20th July 79, 428P-429P

SHERMAN, J.E., J. LIEBESKIND (1980): An endorphinergic, centrifugal substrate of pain modulation: recent findings, current concepts and complexities
In: Pain, 191-204, ed. by J.J Bonica, Raven Press, New York

SHERWOOD, N.M., P.S. TIMIRAS (1974): Comparison of direct current and radiofrequency lesions in the rostral hypothalamus with respect to sexual maturation in the female rat
Endocrinol. 94, 1275-1285

SHIN, S.H. (1978): Blockage of the ether-induced surge of prolactin by naloxone in male rats
J. Endocrinol. 79, 397-398

SIMANTOV, R. (1978): Basal and potassium stimulated, calcium dependent, endorphins release from pituitary cells
Life Sci. 23, 2503-2508

SIMANTOV, R., S.R. CHILDERS, S.H. SNYDER (1978): The opiate receptor binding interactions of ^{3}H-methionine enkephalin, an opioid peptide
Europ. J. Pharmacol. 47, 319-331

SIMANTOV, R. (1979): Glucocorticoids inhibit endorphin synthesis by pituitary cells
Nature 280, 684-685

SIMANTOV, R., D. ZANG, S. YEHUDA (1980): Regulation of pituitary endorphins under steroids treatment and during day-night cycle
In: Neural Peptides and Neuronal Communication, 247-256, ed. by E. Costa and M. Trabucchi Raven Press, New York

SJÖLUND, B., L. TERENIUS, M. ERIKSSON (1977): Increased cerebrospinal fluid levels of endorphins after electro-acupuncture
Acta Physiol. Scand. 100, 382-384

SJÖLUND, B.H., M.B.E. ERIKSSON (1979): Endorphins and analgesia produced by peripheral conditioning stimulation
In: Advances in Pain Research and Therapy, 587-592, Vol. 3, ed. by J.J. Bonica et al., Raven Press, New York

SMYTH, D.G., S. ZAKARIAN (1980): Selective processing of ß-endorphin in regions of porcine pituitary
Nature 288, 613-615

SMYTH, D.G., D.E. MASSEY, S. ZAKARIAN, M.D.A. FINNIE (1979): Endorphins are stored in biologically active and inactive forms: Isolation of α-N-acetyl peptides
Nature 279, 252-254

SNYDER, S.H. (1974): The opiate receptor
Neurosci. Res. Program Bull. 13, 1-27

SNYDER, S.H. (1980): Brain peptides as neurotransmitters
Science, 209, 976-983

SPIAGGIA, A., R.J. BODNAR, D.D. KELLY, M. GLUSMAN (1979): Opiate and non-opiate mechanisms of stress-induced analgesia: cross-tolerance between stressors
Pharmacol. Biochem. Behav. 10, 761-765

SWANN, R.W., C.H. LI (1980): Isolation and characterization of ß-endorphin-like peptides from bovine brains
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 230-233, Biochemistry

SYLVESTER, P.W., H.T. CHEN, J. MEITES (1980): Effects of morphine and naloxone on phasic release of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 164, 207-211

SCHALLY, A.V. (1978): Aspects of hypothalamic regulation of the pituitary gland
Science 202, 18-28

SCHAZ, K., G. STOCK, W. SIMON, K.-H.SCHLÖR, T. UNGER, R. ROCKHOLD, D. GANTEN (1980): Enkephalin effects on blood pressure, heart rate and baroreceptor reflex
Hypertension 2, 395-407

SCHOEMAKER, H., V.J. NICKOLSON (1980): Effects of des-tyr^1-endorphin on dopamine release from various rat brain regions in vitro
Life Sci. 27, 1371-1376

SCHULTZBERG, M., J.M. LUNDBERG, T. HÖKFELT, L. TERENIUS, J. BRANDT, R.P. ELDE, M. GOLDSTEIN (1978a): Enkephalin-like immunoreactivity in gland cells and nerve terminals of the adrenal medulla
Neurosci. 3, 1169-1186

SCHULTZBERG, M., C.F. DREYFUS, M.D. GERSHON, T. HÖKFELT, R.P. ELDE, G. NILSSON, S. SAID, M. GOLDSTEIN (1978b): VIP-, enkephalin-, substanceP- and somatostatin-like immunoreactivity in neurons intrinsic to the intestine: immunohistochemical evidence from organotypic tissue cultures
Brain Res. 155, 239-248

SCHULZ, R. (1978): Körpereigene Opiate - Endorphine
Dt. Ärztebl. - Ärztl. Mitteilungen 75, 2255-2260

SCHWARTZ, J.-C., H. POLLARD, C. LLORENS, B. MALFROY, C. GROS, P. PRADELLES, F. DRAY (1978): Endorphins and endorphin receptors in striatum: relationships with dopaminergic neurons
Adv. Biochem. Psychopharmacol. 18, 245-264

SCHWARTZ, J.-C. (1979): Opiate receptors on catecholaminergic neurones in brain
TINS, June 1979, 137-139

STARKE, K. (1977): Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems
Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 77, 1-124

STEGER, R.W., W.E. SONNTAG, D.A. VAN VUGT, L.J. FORMAN, J. MEITES (1980): Reduced ability of naloxone to stimulate LH and testosterone release in aging male rats; possible relation to increase in hypothalamic met^5-enkephalin
Life Sci. 27, 747-753

STEIN, L., J.D. BELLUZZI (1979): Brain endorphins: possible role in reward and memory formation
Federation Proc. 38, 2468-2472

STERN, A.S., R.V. LEWIS, S. KIMURA, J. ROSSIER, L.D. GERBER, L. BRINK, S. STEIN, S. UDENFRIEND (1979): Isolation of the opioid heptapeptide met-enkephalin (Arg^6, Phe^7) from bovine adrenal medullary granules and striatum
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 6680-6683, Neurobiology

STINUS, L., G.F. KOOB, N. LING, F.E. BLOOM, M. LE MOAL (1980): Locomotor activation induced by infusion of endorphins into the ventral tegmental area: evidence for opiate-dopamine interactions
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 2323-2327, Neurobiology

STRATMANN, J.E., C. EZRIN, E.A. SELLERS (1974):Estrogen-induced transformation of somatotrophs into mammotrophs in the rat
Cell Tiss. Res. 152, 229-238

TACHÉ, Y., M. LIS, R. COLLU (1977): Effects of thyrotropin-releasing hormone on behavioral and hormonal changes induced by ß-endorphin
Life Sci. 21, 841-846

TACHÉ, Y., G. CHARPENET, M. CHRÉTIEN, R. COLLU (1979): Role of serotonergic pathways in hormonal changes induced by opioid peptides
In: Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides, 301-313, ed. by R. Collu, A. Barbeau, J.R. Ducharme, J.G. Rochefort, Raven Press, New York

TAKAGI, H., H. SHIOMI, H. UEDA, H. AMANO (1979a): A novel analgesic dipeptide from bovine brain is a possible met-enkephalin releaser
Nature 282, 410-412

TAKAGI, H., H. SHIOMI, H. UEDA, H. AMANO (1979b): Morphine-like analgesia by a new dipeptide L-tyrosyl-L-argine (kyotorphin) and its analogue
Europ. J. Pharmacol. 55, 109-111

TAKAGI, H., M. SATOH, H. SHIOMI, A. AKAIKE, H. UEDA, S. KAWAJIRI, M. YAMAMOTO, H. AMANO (1980): Identification of a new opioid peptide from the bovine brain and its mechanism of action
In: Endogenous and Exogenous Opiate Agonists and Antagonists, 201-204, Pergamon Press, New York

TAUBE, H.-D. (1978): Opiatrezeptoren und Endorphine
Anaesthesist 27, 2-9

TERENIUS, L. (1977): Opioid peptides and opiates differ in receptor selectivity
Psychoneuroendocrinol. 2, 53-58

TERENIUS, L. (1978): The implications of endorphins in pathological states
In: Characteristics and Function of Opioids, 143-158, ed. by Van Ree and Terenius, Elsevier/North-Holland Biomedical Press

TESCHEMACHER, H. (1978): Endorphine-körpereigene Analgetika
Dtsch. Zschr. Akup. 2, 34-40

TINDAL, J.S. (1978): Control of prolactin secretion
In: The Endocrine Hypothalamus, 333-361, ed. by S.L. Jeffcoate and J.M.S. Hutchinson, Academic Press, London, New York, San Francisco

TRAMU, G., J. LEONARDELLI (1979): Immunohistochemical localization of enkephalins in median eminence and adenohypophysis
Brain Res. 168, 457-471

TSENG, L.-F., E.T. WEI, H.H. LOH, C.H. LI (1980): ß-endorphin: central sites of analgesia, catalepsy and body temperature changes in rats
J. Pharmacol. Exp. Therap. 214, 328-332

UDDMAN, R., J. ALUMETS, R. HÅKANSON, F. SUNDLER, B. WALLES (1980): Peptidergic (enkephalin) innervation of the mammalian esophagus
Gastroenterol. 78, 732-737

UEDA, H., H. SHIOMI, H. TAKAGI (1980): Regional distribution of a novel analgesic dipeptide kyotorphin (tyr-arg) in the rat brain and spinal cord
Brain Res. 198, 460-464

VAUGHAN, M.K., L.Y. JOHNSON, D.T. DINH, D.E. BLASK, J.C. GUERRA, R.C. DE LOS SANTOS, R.J. REITER (1980): Effect of arginine vasotocine and/or naloxone treatment on plasma prolactin, LH and FSH secretion in unanesthesized adult male rats
The Anatomical Record 196, 195A

VERMES, I., G.H. MULDER, P.G. SMELIK (1980): Opposite effects of K^+induced depolarisation on endorphin/lipotropin secretion by anterior and intermediate lobes of the rat pituitary
Europ. J. Pharmacol. 63, 89-90

VIJAYAN, E., S.M. McCANN (1978a): Re-evaluation of the role of catecholamines in control of gonadotropin and Prolactin release
Neuroendocrinol. 25, 150-165

VIJAYAN, E., S.M. McCANN (1978b): The effect of systemic administration of dopamine and apomorphine on plasma LH and prolactin concentrations in conscious rats
Neuroendocrinol. 25, 221-235

VIJAYAN, E., W.K. SAMSON, S.M. McCANN (1978c): Effects of intraventricular injection of gastrin on release of LH, prolactin, TSH and GH in conscious ovariectomized rats
Life Sci. 23, 2225-2232

VIJAYAN, E., S.M. McCANN (1979a): In vivo and in vitro effects of substance P and neurotensin on gonadotropin and prolactin release
Endocrinol. 105, 64-68

VIJAYAN, E., W.K. SAMSON, S.M. McCANN (1979b): In vivo and in vitro effects of cholecystokinin on gonadotropin, prolactin, growth hormone and thyrotropin release in the rat
Brain Res. 172, 295-301

VIJAYAN, E., W.K. SAMSON, S. SAID, S.M. McCANN (1979c): Vasoactive intestinal peptide (VIP): evidence for a hypothalamic site of action to release growth hormone, luteinizing hormone, and prolactin in conscious ovariectomized rats
Endocrinol. 104, 53-57

VIJAYAN, E., S.M. McCANN (1980): Effect of blockade of dopaminergic receptors on acetylcholine (Ach)-induced alterations of plasma gonadotropin and prolactin (Prl) in conscious ovariectomized rats.
Brain Res. Bull. 5, 23-29

VOLAYKA, J., D. CHO, A. MALLYA, J. BAUMAN (1979): Naloxone increases ACTH and cortisol levels in man
New Engl. J. Med. 303, 1056-1057

VAN VUGT, D.A., J.F. BRUNI, J. MEITES (1978a): Naloxone inhibition of stress-induced increase in prolactin secretion
Life Sci. 22, 85-90

VAN VUGT, D.A., J.F. BRUNI, J. MEITES (1978b): Effects of morphine and naloxone on the post-castration rise of luteinizing hormone
IRCS J. Med. Sci. 7, 56-61

VAN VUGT, D.A., J.F. BRUNI, P.W. SYLVESTER, H.T. CHENG, T. IEIRI, J. MEITES (1979): Interaction between opiates and hypothalamic dopamine on prolactin release
Life Sci. 24, 2361-2368

VAN VUGT, D.A., J. MEITES (1980): Influence of endogenous opiates on anterior pituitary function
Federation Proc. 39, 2533-2538

WAHLSTRÖM, A., L. TERENIUS (1980): Chemical characteristics of endorphins in human cerebrospinal fluid
FEBS Letters 118, 241-244

WALKER, R.F. (1980): Serotonin neuroleptics change patterns of preovulatory secretion of luteinizing hormone in rats
Life Sci. 27, 1063-1068

WATSON, S.J., J.D. BARCHAS, C.H. LI (1977): ß-lipotropin: localization of cells and axons in rat brain by immunocytochemistry
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 5155-5158

WEI, E.T., A. LEE, J.K. CHANG (1980): Cardiovascular effects of peptides related to the enkephalins and ß-casomorphin
Life Sci. 26, 1517-1522

WEINER, R.I., W.F. GANONG (1978): Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion
Physiol. Ref. 58, 905-976

WEISBRODT, N.W., S.E. SUSSMANN, J.J. STEWART, T.F. BURKS (1980): Effect of morphine sulfate on intestinal transit and myoelectric activity of the small intestine of the rat
J. Pharmacol. Exp. Therap. 214, 333-338

WEN, H.L., Y.H. NG, W.K.K. HO, K.P. FUNG, H.K. WONG, L.MA, H.C. WONG (1978): Acupuncture in narcotic withdrawal: a preliminary report on biochemical changes in the blood and urine of heroin addicts
Bull. on Narcotics 30, 31-39

WENGER, T., J. LEONARDELLI (1980): Circadian and cyclic LHRH variations in the organum vasculosum of the lamina terminalis of female and male rats
Neuroendocrinol. 31, 331-337

WESCHE, D.L., R.C.A. FREDERICKSON (1979): Diurnal differences in opioid peptide levels correlated with nociceptive sensitivity
Life Sci. 24, 1861-1868

WHARTON, J., J.M. POLAK, A.G.E. PEARSE, G.P. McGREGOR, M.G. BRYANT, S.R. BLOOM, P.C. EMSON, G.E. BISGARD, J.A. WILL (1980): Enkephalin-, VIP- and substance P-like immunoreactivity in the carotid body
Nature 284, 269-271

WILKES, M.M., W.B. WATKINS, R.D. STEWART, S.S.C. YEN (1980): Localization and quantitation of ß-endorphin in human brain and pituitary
Neuroendocrinol. 30, 113-121

WILLIAMS, J.T., R.A. NORTH (1979): Effects of endorphins on single myenteric neurons
Brain Res. 165, 57-65

WILSON, S.P., K.J. CHANG, H. VIVEROS (1980): Synthesis of enkephalins by adrenal medullary chromaffin cells: reserpine increases incorporation of radiolabeled amino acids
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 4364-4368

WIMERSMA-GREIDANUS, T.B. VAN, T.J. THODY, H. VERSPAGET, G.A. DE ROTTE, H.J.H. GOEDEMANS, G. CROISET, J.M. VAN REE (1979): Effects of morphine and ß-endorphin on basal and elevated plasma levels of α-MSH and vasopressin
Life Sci. 24, 579-586

WONG, C.L., M.B. ROBERTS, M.-K. WAI (1980): Effect of morphine and naloxone on intestinal transit in mice
Europ. J. Pharmacol. 64, 289-295

WOO, N., H. KALANT, C. GIANOULAKIS, M. CHRÉTIEN (1980): Effects of morphine and ethanol tolerance and withdrawal on pituitary endorphin-like immunoreactivity
Drug Al. Dep. 6, 107-109

WOOD, P.L., L.M. STOTLAND (1980): Actions of enkephalin, μ- and partial agonist analgesics on acetylcholine turnover in rat brain
Neuropharmacol. 19, 975-982

WÜSTER, M., R. SCHULZ, A. HERZ (1980): The direction of opioid agonists toward μ-, δ- and ε-receptors in the vas deferens of the mouse and the rat
Life Sci. 27, 163-170

WUTTKE, W., K.D. DOHLER, M. GELATO (1976): Oestrogens and prolactin as possible regulators of puberty
J. Endocrinol. 68, 391-396

WUTTKE, W., K.G. HÖHN (1978): Ontogeny of preoptic and hypothalamic catecholamine turnover rates and the relation to prolactin and gonadotropin levels.
In: Hormones and Brain Development, 341-349, ed. by G. Dörner, M. Kawakami, Elsevier/ North-Holland, Amsterdam

WUTTKE, W. (1980): Neuroendokrine Regulationsmechanismen
Naturwissenschaften 67, 288-295

WUTTKE, W., K. HONMA, R. LAMBERTS, K.G. HÖHN (1980): The role of monoamines in female puberty
Federation Proc. 39, 2378-2383

YAKSH, T.L., P.R.WILSON, R.F. KAIKO, C.E. INTURRISI (1979): Analgesia produced by a spinal action of morphine and effects upon parturition in the rat
Anesthesiol. 51, 386-392

YANG, H.-Y.T., J.S. HONG, W. FRATTA, E. COSTA (1978): Rat brain enkephalins: distribution and biosynthesis
Adv. Biochem. Psychopharmacol. 18, 149-159

YANG, H.-Y.T., T. HEXUM, E. COSTA (1980): Opioid peptides in adrenal gland
Life Sci. 27, 1119-1125

YASUKAWA, N., H. MONDER, S.D. MICHAEL, J.J. CHRISTIAN (1978): Opiate antagonist counteracts reproductive inhibition by porcine ACTH extract
Life Sci. 22, 1381-1390

ZAKARIAN, S., D. SMYTH (1979): Distribution of active and inactive forms of endorphins in rat pituitary and brain
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 5972-5976

ZETLER, G. (1979): Antagonism of cholecystokinin-like peptides by opioid peptides, morphine or tetrodotoxin
Europ. J. Pharmacol. 60, 67-77

ZIMMERMANN, E., C.N. PANG (1976): Acute effect of opiate administration on pituitary gonadotropin and prolactin release
In: Tissue Responses to Addictive Drugs, ed. by Ford and Clouet, Spectrum Publications, New York

ZIOUDROU, C., R.A. STREATY, W.A. KLEE (1979): Opioid peptides derived from food proteins: the exorphins
J. Biol. Chem. 254, 2446-2449

Herrn Professor Dr. Meinhard Rüsse möchte ich besonders herzlich für die Überlassung des Themas und das in mich gesetzte Vertrauen danken.

Ein großes Anliegen ist es mir, Herrn Professor Dr. med. Albert Herz und seinem Mitarbeiter, Herrn Dr.med.vet.habil. Rüdiger Schulz vom Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Abteilung Neuropharmakologie, meinen aufrichtigen Dank zu sagen für die allzeit bereitwillig gewährte Hilfe bei der Beschaffung der Literatur für diese Arbeit.

Für die freundliche Auskunft in hirnanatomischen Fragen danke ich sehr herzlich Herrn Professor Dr. Peter Walter.

Frau Barbara Ruppel sei für die zeichnerische Darstellung der schematischen Schnitte durch das Gehirn herzlichst gedankt.

L E B E N S L A U F

Am 2. April 1955 wurde ich als Tochter des technischen Kaufmanns Julius Ehrenreich und seiner Ehefrau Elisabeth, geborene Bolkart, in Augsburg geboren.

In den Jahren 1961 bis 1965 besuchte ich die Volksschule an der Türkenstraße in München, von 1965 bis 1974 das Graf-Rasso-Gymnasium Fürstenfeldbruck, wo ich im Mai 1974 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1974/75 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Hochschule Hannover, das ich ab Sommersemester 1975 an der Tiermedizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München fortsetzte, um es im Oktober 1980 mit dem Staatsexamen abzuschließen.

ENKE COPYTHEK
- ist ein besonderer Publikationsservice
- dient der Verbreitung von Spezialmonographien
- garantiert uneingeschränkte Information
- ermöglicht kurzfristige Nachdrucke
- verzichtet auf aufwendige Ausstattung
- genießt alle Vorteile eines Verlags-Vertriebs